



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Ciencias Biológicas

Escuela Profesional de Ciencias Biológicas

Determinación de la diversidad y estructura genética de la cabra criolla (*Capra hircus* Linnaeus, 1758) de los departamentos de Lima y Piura mediante el uso de microsatélites

TESIS

**Para optar el Título Profesional de Biólogo con mención en
Hidrobiología y Pesquería**

AUTOR

Cristian Dario BUSTAMANTE SUMIRE

ASESORES

Dra. Mónica ARAKAKI MAKISHI

Eudosio Amancio VELI RIVERA (Co-asesor)

Lima, Perú

2019



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Bustamante, C. (2019). *Determinación de la diversidad y estructura genética de la cabra criolla (Capra hircus Linnaeus, 1758) de los departamentos de Lima y Piura mediante el uso de microsatélites*. Tesis para optar el título profesional de Biólogo con mención en Hidrobiología y Pesquería. Escuela Profesional de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.

HOJA DE METADATOS COMPLEMENTARIOS

1. CÓDIGO ORCID DEL AUTOR (DATO OPCIONAL):

0000-0001-6121-7949

2. CÓDIGO ORCID DEL ASESOR O ASESORES (DATO OBLIGATORIO):

MÓNICA ARAKAKI MAKISHI (ASESOR INTERNO): 0000-0003-1081-2507

3. DNI DEL AUTOR

70865497

4. GRUPO DE INVESTIGACIÓN

NINGUNO

5. INSTITUCIÓN QUE FINANCIA PARCIAL O TOTALMENTE LA INVESTIGACIÓN:

PROGRAMA NACIONAL DE INNOVACIÓN AGRARIA 094_PI

6. UBICACIÓN GEOGRÁFICA DONDE SE DESARROLLÓ LA INVESTIGACIÓN. DEBE INCLUIR LOCALIDADES Y COORDENADAS GEOGRÁFICAS:

DEPARTAM.	PROV.	DISTR.	COMUNIDAD	LAT.	LONG.
Lima	Huaral	Huaral	Jesús del Valle	-11.5145277777778	-77.1946666666667
			La Huaca	-11.5121111111111	-77.1928888888889
			San Isidro	-11.4674444444444	-77.2112777777778
		Chancay	San Martín	-11.5224166666667	-77.2876388888889
	Huaura	Huaura	3 de Mayo	-11.0657777777778	-77.6216111111111
			San Pedrito-Acaray	-11.0595555555556	-77.5395000000000
		Vegueta	La Perlita	-11.0205833333333	-77.6289444444444
		Sayan	Quintay	-11.0999722222222	-77.1713611111111
	Canta	Santa Rosa de Quives	Macas	-11.6832222222222	-76.9257777777778
Piura	Piura	Castilla	Virgen de Fátima	-5.1468900000000	-80.4157240000000
			Santa Rosa	-5.1541400000000	-80.1770900000000
		Piura	Nueva esperanza	-5.1553800000000	-80.1768900000000
	Morropón	Chulucanas	Santa Rosa	-5.1541400000000	-80.1770900000000
			Alto el gallo	-5.2083800000000	-80.1895400000000
		Tambo Grande	Valle Hermosa	-5.2182500000000	-80.1867800000000
			Hualtaco II	-4.8569300000000	-80.3059300000000

7. AÑO O RANGO DE AÑOS QUE LA INVESTIGACIÓN ABARCÓ:

DOS AÑOS



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
(Universidad del Perú, Decana de América)

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**ACTA DE SESIÓN PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE
BIÓLOGO CON MENCIÓN EN HIDROBIOLOGÍA Y PESQUERÍA
(MODALIDAD: SUSTENTACIÓN DE TESIS)**

Siendo las 15:15..... horas del 11 de febrero de 2019, en el Salón de Grados de la Facultad de Ciencias Biológicas y en presencia del jurado formado por los profesores que suscriben, se dio inicio a la sesión para optar al Título Profesional de Biólogo con mención en **Hidrobiología y Pesquería** de **CRISTIAN DARIO BUSTAMANTE SUMIRE**.

Luego de dar lectura y conformidad al expediente N° 019-EPCB-2018, el titulando expuso su tesis: **"DETERMINACIÓN DE LA DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA DE LA CABRA CRIOLLA (*Capra hircus* Linnaeus, 1758) DE LOS DEPARTAMENTOS DE LIMA Y PIURA MEDIANTE EL USO DE MICROSATÉLITES"**, y el Jurado efectuó las preguntas del caso calificando la exposición con la nota 18.., calificativo: Aprobado con mención honoraria. Finalmente, el expediente será enviado a la Escuela Profesional de Ciencias Biológicas y al Consejo de Facultad para que se apruebe otorgar el Título Profesional de Biólogo con mención en **Hidrobiología y Pesquería** a **CRISTIAN DARIO BUSTAMANTE SUMIRE** y se eleve lo actuado al Rectorado para conferir el respectivo título, conforme a ley.

Siendo las 16:40..... horas se levantó la sesión.

Ciudad Universitaria, 11 de febrero de 2019.

Mg. GUSTAVO SANDOVAL PEÑA
(PRESIDENTE)

Dra. MONICA ARAKAKI MAKISHI
(ASESORA)

Dra. DIANA SILVA DAVILA
(MIEMBRO)

Bgo. DANIEL ORE CHAVEZ
(MIEMBRO)

DEDICATORIA

A mi madre y padre:

María Rosa Sumire Machaca y Enrique Bustamante Jara

AGRADECIMIENTOS

A todos aquellos a los que agradeceré, sepan que son individuos extraordinarios, que los adjetivos para describirlos aún no se han inventado y que tampoco pretendo ser un Cervantes para concebirlas. Sepan también que lo digo con la mayor objetividad que me es posible hasta ahora.

A mis padres por todo el apoyo brindado, nunca podré retribuir toda la ayuda que me han brindado. Son personas excepcionales. Los quiero mucho.

A mis hermanos, porque también han contribuido de forma indirecta a la finalización de esta tesis.

Al Ing. Eudosio Veli Rivera por brindarme la oportunidad de realizar esta tesis y por el apoyo durante toda su realización. Me entusiasma su capacidad de concentración ante tareas simultáneas y cambiantes.

A la Dra. Mónica Arakaki por sus valiosas correcciones, sugerencias, amabilidad e interés por mi futuro.

A mis revisores de tesis, el Prof. Daniel Oré, Profa. Diana Silva y Prof. Gustavo Sandoval, por su paciencia y valiosas correcciones. Fueron de gran ayuda.

A Wendy Acuña, por su paciencia y preciada ayuda en la culminación de esta tesis. No tengo palabras, tu ayuda es invaluable.

A Claudia Yalta, por tus consejos, ánimos y apoyo en la realización de la tesis. La mayor de mis gratitudes hacia ti, Claudinha.

A Lenin chumbe. Eres un sujeto muy peculiar, una excentricidad, un ser vivo muy singular, una rareza entre rarezas...así te veo yo, mi amigo. Me has influenciado mucho, que lo sepas. Gracias por tu apoyo e indulgencia, reconozco que puedo ser insufrible muchas veces.

A Alan, Henry (いつか私たちは日本のチャウファを食べるでしょう), Rosa y Rolando, digamos pronto cuál Frodo Bolsón (a excepción de Alan y Rolando): It's over, it's done! Gracias por su apoyo. Aprendí mucho de ustedes y disfruté de su compañía.

A todos mis amigos del INIA, gracias por su agradable compañía, ánimo e información.

Finalmente, agradezco a todos aquellos que existieron desde el principio de los tiempos, ya sean personas o no, porque de alguna manera contribuyeron a que el mundo actual sea tal cual es y que esté escribiendo estas palabras en este momento. Sin sus acciones, acertadas y desafortunadas la finalización de esta tesis no habría sido posible. Sus buenas acciones no serán en vano.

ABREVIATURAS

ADN	Ácido desoxirribonucleico
AFC	Analyse factorielle des correspondances (Análisis factorial de correspondencias)
AFLP	Amplified fragment length polymorphism (Polimorfismo en la longitud de los fragmentos amplificados)
AMOVA	Analysis of Molecular Variance (Análisis de la Varianza Molecular)
AMR	Alelos muy raros
AR	Alelos raros
ARN	Ácido ribonucleico
ARNasa	Enzima degradadora de ARN
BSA	Bovine serum albumin (Albúmina de suero bovino)
DGI-MINAG	Dirección General de Investigación del Ministerio de Agricultura
dNTPs	Deoxyribonucleotide triphosphates (Desoxirribonucleótidos trifosfato)
D_{ST}	Distancia genética de Weir y Cockerham (1984)
DTT	Dithiothreitol (Ditiotreitol)
EDTA	Ethylendiaminetetraacetic Acid (Ácido etilenodiaminotetracético)
EHW	Equilibrio Hardy-Weinberg
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations (Organización de la Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación)
F_{IS}	Coeficiente de endogamia
F_{IT}	Índice de fijación conjunto
F_{ST}	Medida de diferenciación genética de Wright (1951, 1969)
GL	Grados de libertad
G_{ST}	Medida de diferenciación genética de Nei (1973)
H_e	Heterocigosidad esperada
H_I	Heterocigosis observada media de un grupo de subpoblaciones
H_o	Heterocigosidad observada

H_s	Heterocigosis esperada media de un grupo de subpoblaciones
H_T	Heterocigosis esperada de la población global
H-W	Hardy-Weinberg
IAM	Infinite alleles model (Modelo de los alelos infinitos)
INEI	Instituto Nacional de Estadística e Informática
INIA	Instituto Nacional de Innovación Agraria
MHC	Major histocompatibility complex (Complejo Mayor de Histocompatibilidad)
mtADN	ADN mitocondrial
NJ	Neighbor-Joining
ONU	Organización de las Naciones Unidas
pb	Pares de bases
PIC	Polymorphic information content (Contenido de información polimórfica)
RAPD	Random amplified polymorphic DNA (ADN polimórfico amplificado aleatoriamente)
RFLP	Restriction fragment length polymorphism (Polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción)
rpm	Revoluciones por minuto
R_{ST}	Medida de diferenciación genética de Slatkin (1995)
SC	Suma de cuadrados
SD	Standard deviation (Desviación estándar)
SDS	Sodium dodecyl sulfate (Dodecilsulfato de sodio)
SMM	Stepwise mutation model (Modelo mutacional por pasos)
SSR	Simple sequence repeat (Secuencias simples repetidas)
STR	Short tandem repeat (Secuencias cortas repetidas)
TBE	Tris-Borate-EDTA (Tris-Borato-EDTA)
TE	Tris-EDTA
TRIS	Tris (hidroximetil) aminometano

U	Unidad(es)
UPGMA	Unweighted Pair Group Method using Arithmetic Averages (Análisis de agrupamiento por promedio aritmético de grupos de pares no ponderados)
URF	Unidad Relativa de Fluorescencia
UV	Ultravioleta
VE	Varianza estimada
%V	Porcentaje de varianza

ÍNDICE GENERAL

ABREVIATURAS	I
ÍNDICE DE TABLAS	IV
ÍNDICE DE FIGURAS	V
RESUMEN	VII
ABSTRACT	VIII
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO	3
2.1 Diversidad genética	3
2.2 Conservación de la diversidad genética en el ganado	3
2.3 La especie <i>Capra hircus</i>	5
2.3.1 Taxonomía	5
2.3.2 Origen y distribución	6
2.3.3 Importancia de la cabra criolla peruana	9
2.4 Marcadores usados para la caracterización genética	10
2.5 Marcadores microsatélites	11
2.5.1 Composición, polimorfismo y distribución	11
2.5.2 Clasificación de microsatélites	12
2.5.3 Ventajas y limitaciones de los STRs en estudios de diversidad genética	12
2.6 Fases para la obtención de datos de microsatélites	16
2.6.1 Extracción de ADN	16
2.6.2 Amplificación mediante PCR	16
2.6.3 Genotipificación	18
2.7 Análisis estadístico	19
2.7.1 Análisis de la diversidad genética	19
2.7.2 Análisis de la estructura genética	24
3. HIPÓTESIS	29
4. OBJETIVOS	29
5. MATERIALES Y MÉTODOS	30
5.1 Área de estudio	30
5.2 Colecta de muestras biológicas	31
5.2.1 Colecta a partir de sangre	32
5.2.2 Colecta de folículos pilosos	32
5.3 Extracción de ADN genómico	34

5.3.1	Extracción a partir de sangre	34
5.3.2	Extracción desde folículos pilosos	34
5.4	Evaluación de ADN extraído	36
5.5	Selección de STRs	36
5.6	Amplificación de STRs.....	37
5.7	Genotipificación	38
5.8	Análisis estadístico	40
5.8.1	Diversidad genética	40
5.8.2	Estructura genética.....	40
5.8.3	Endogamia	41
5.8.4	Distancias genéticas.....	41
6.	RESULTADOS	42
6.1	Calidad de ADN genómico.....	42
6.2	Amplificación de microsatélites y genotipificación	42
6.3	Análisis de la diversidad genética	43
6.3.1	PIC y alelos nulos	43
6.3.2	Número de alelos	45
6.3.3	Frecuencias alélicas y alelos raros	46
6.3.4	Heterocigosidad.....	60
6.3.5	Equilibrio Hardy-Weinberg	61
6.4	Análisis de la estructuración genética	62
6.4.1	AMOVA- F_{ST} , estadísticos F y R_{ST}	62
6.4.2	Agrupamiento de individuos mediante probabilidades bayesianas	64
6.4.3	Distancias genéticas.....	66
7.	DISCUSIÓN.....	70
7.1	Calidad de la extracción de ADN	70
7.2	Análisis de la diversidad genética	70
7.3	Análisis de la estructura genética	75
8.	CONCLUSIONES	78
9.	RECOMENDACIONES.....	79
	BIBLIOGRAFÍA.....	80

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Clasificación de los STRs por el patrón de orden de los motivos.....	12
Tabla 2: Clasificación de valores de PIC	20
Tabla 3: Número y procedencia de cabras criollas muestreadas en los departamentos de Lima y Piura.....	30
Tabla 4: Estimación del PIC por locus en cada población.	43
Tabla 5: Alelos nulos en la población total.....	44
Tabla 6: Alelos nulos en las poblaciones de Lima y Piura..	45
Tabla 7: Número total de alelos (N_{total}) en las poblaciones de Lima y Piura.	46
Tabla 8: Número de alelos raros y alelos muy raros en las poblaciones de Lima y Piura.	60
Tabla 9: Heterocigosidad de las poblaciones de Lima y Piura.....	61
Tabla 10: Evaluación del EHW para cada locus en las poblaciones de Lima y Piura..	62
Tabla 11: AMOVA- F_{ST} y estadísticos F_{ST} y R_{ST} entre las poblaciones de Lima y Piura..	63
Tabla 12: AMOVA- F_{ST} y estadísticos F_{ST} y R_{ST} entre las subpoblaciones de Lima y Piura..	63
Tabla 13: Datos generados por STRUCTURE HARVESTER destacando el mejor valor para K.....	66
Tabla 14: Cuadro de doble entrada de distancias F_{ST} y distancias genéticas ponderadas de Reynolds entre las subpoblaciones de caprinos de Lima, Piura y la población del grupo externo (Saanen)..	67

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Distribución por departamento del ganado caprino en el Perú	8
Figura 2: Ubicación de los puntos de muestreo en los departamentos de Piura y Lima.	31
Figura 3: Procedimiento de colecta de muestras.	33
Figura 4: Extracción de ADN genómico..	35
Figura 5: Evaluación del ADN genómico.....	36
Figura 6: Amplificación de microsatélites por PCR.....	37
Figura 7: Genotipificación.	39
Figura 8: Ejemplo de reporte de electroferogramas obtenidos	39
Figura 9: Gel al 2% de producto amplificado para los STRs del protocolo M2.	42
Figura 10: Distribución de frecuencias alélicas para el locus BM1258.	47
Figura 11: Distribución de frecuencias alélicas para el locus BM1818.	47
Figura 12: Distribución de frecuencias alélicas para el locus CSRD247.....	48
Figura 13: Distribución de frecuencias alélicas para el locus ETH152.	48
Figura 14: Distribución de frecuencias alélicas para el locus HSC.	49
Figura 15: Distribución de frecuencias alélicas para el locus ILSTS008.....	50
Figura 16: Distribución de frecuencias alélicas para el locus ILSTS019.....	50
Figura 17: Distribución de frecuencias alélicas para el locus ILSTS087.....	51
Figura 18: Distribución de frecuencias alélicas para el locus INRA005.	52
Figura 19: Distribución de frecuencias alélicas para el locus INRA006.	52
Figura 20: Distribución de frecuencias alélicas para el locus INRA023.	53
Figura 21: Distribución de frecuencias alélicas para el locus INRA063.	53
Figura 22: Distribución de frecuencias alélicas para el locus INRA172.	54
Figura 23: Distribución de frecuencias alélicas para el locus MAF65.	55
Figura 24: Distribución de frecuencias alélicas para el locus MCM527.	55
Figura 25: Distribución de frecuencias alélicas para el locus OARCP34.....	56

Figura 26: Distribución de frecuencias alélicas para el locus OARFCB20.....	57
Figura 27: Distribución de frecuencias alélicas para el locus SPS113.	57
Figura 28: Distribución de frecuencias alélicas para el locus SRCRS23.	58
Figura 29: Distribución de frecuencias alélicas para el locus SRCRSP5.....	59
Figura 30: Distribución de frecuencias alélicas para el locus SRCRSP8.....	59
Figura 31: Análisis de estructuración genética considerando dos, tres y cuatro poblaciones..	65
Figura 32: Dendrograma usando el método UPGMA y la distancia genética ponderada de Reynolds.....	68
Figura 33: Dendrograma usando el el método NJ y la distancia genética ponderada de Reynolds.....	68
Figura 34: Diferenciación genética entre las 05 subpoblaciones y la población externa (Saanen) mediante AFC.	69

RESUMEN

Se evaluó la diversidad y estructura genética de 269 cabras criollas, *Capra hircus*, de los departamentos de Lima (187) y Piura (82) en Perú, mediante el uso de 21 marcadores tipo microsatélite, de los cuales diecisiete fueron altamente informativos ($PIC > 0.5$) y se recomiendan para el análisis de la diversidad genética en estas poblaciones. La población de Lima presentó una H_e y número medio de alelos por locus de 0.67 y 8.19, respectivamente; mientras que para Piura estos fueron 0.71 y 7.86, respectivamente. La diversidad genética de las poblaciones fue alta, siendo la de Piura ligeramente mayor que la de Lima. Además, se observó una ausencia de endogamia en ambas poblaciones ($F_{IS}=0.036$). Los estadísticos de AMOVA, F_{ST} y R_{ST} mostraron valores de 3% de variación interpoblacional, 0.030 y 0.045, respectivamente, lo que indica una baja estructuración genética. El análisis de estructura genética por métodos bayesianos, el análisis factorial de correspondencias y los análisis de distancia corroboraron la baja estructura genética entre las poblaciones de Lima y Piura, así como entre cada una de sus subpoblaciones. Este resultado puede deberse al significativo flujo génico entre las poblaciones, a pesar de su lejanía geográfica, la predominancia de apareamientos no dirigidos debido al sistema de producción mayormente extensivo, diversidad de criterios de selección, así como el gran tamaño poblacional en estos departamentos, lo cual tiende a disminuir el efecto de la deriva génica.

Palabras clave: cabra criolla, conservación, diversidad genética, estructura genética, marcadores microsatélites

ABSTRACT

The genetic diversity and structure of 269 creole goats, *Capra hircus*, from the departments of Lima (187) and Piura (82) in Perú, were evaluated by using 21 microsatellite markers, of which seventeen were highly informative ($PIC > 0.5$) and are recommended for studies in genetic diversity in these populations. The population of Lima presented a H_e and mean number of alleles per locus of 0.67 and 8.19, respectively; while for Piura these values were 0.71 and 7.86, respectively. The genetic diversity of both populations was high, being that of Piura slightly higher than that of Lima. In addition, an absence of inbreeding was detected in both populations ($F_{IS} = 0.036$). The AMOVA, F_{ST} , R_{ST} statistics showed values of 3% interpopulation variation, 0.030 and 0.045, respectively, indicating a low genetic structure. The analysis of genetic structure for Bayesian methods, factorial correspondence analysis and distance analyses, corroborated the low genetic structure between the populations in Lima and Piura, as well as between each of their subpopulations. This result may be due to the significant gene flow between the populations, despite the geographic remoteness, the predominance of non-directed mating due to the largely extensive production system, diversity of selection criteria, as well as the large population size in these departments, which tends to decrease the effect of gene drift.

Keywords: creole goat, conservation, genetic diversity, genetic structure, microsatellite markers

1. INTRODUCCIÓN

La cabra criolla es el resultado de la adaptación de la cabra doméstica al medio americano desde su introducción al continente en 1493. Según Laguna (1991), las razas caprinas Castellana de Extremadura y Blanca Celtibérica fueron las que se introdujeron originalmente al Perú, sin embargo, en la actualidad, ya no se puede decir que la cabra criolla peruana descende solo de estas cabras españolas, debido a que, desde 1950, se han realizado cruces con diversas razas, en especial, la Anglonubiana, la cual tiene un mayor influjo en el caprino criollo contemporáneo (Arroyo, 1998).

La crianza de ganado caprino representa una de las más importantes fuentes de alimento e ingresos para numerosas familias en la costa y sierra del país; produciendo carne, leche y sus derivados, cuero, abono, entre otros. La cabra criolla es un animal manso y de fácil crianza, ya que esta no necesita mucho espacio; asimismo, presenta una madurez sexual rápida, logrando su primera parición al año y seis meses. Además, se repone con mayor celeridad de periodos de deficiente alimentación, presenta una mayor resistencia a las enfermedades que otras especies de ganado y posee pocos problemas de fertilidad (DGI-MINAG, 2008).

La leche de cabra contiene ácidos grasos de menor tamaño que los encontrados en la leche de bovinos, lo cual está relacionado con una mayor digestibilidad y absorción (Alais, 1984; Burrows, 2003; Richardson, 2004). Posee entre 1 y 13 % menos lactosa que la leche de vaca y hasta 41 % menos que la leche humana, lo cual está directamente asociado con un menor número de problemas relacionados a la intolerancia (Richardson, 2004). Presenta menos α -s1-caseína que la leche bovina y más α -s2-caseína, la cual es menos alérgica (Burrows, 2003). Asimismo, las personas con déficit de calcio podrían beneficiarse de su consumo, ya que, presenta un 15 % más de este mineral con respecto a la leche de vaca (Burrows, 2003).

Además, la cabra criolla requiere de una baja inversión en su crianza y se presenta como una conveniente actividad complementaria a la agricultura, debido a que puede consumir los subproductos agrícolas y controlar la vegetación invasora (DGI-MINAG, 2008).

Según el IV Censo Nacional Agropecuario (INEI, 2012), el ganado caprino se encuentra presente en todos los departamentos del Perú. El departamento con mayor tamaño poblacional es Piura (25.1%) y el cuarto más poblado es Lima (8.5%), los cuales representan en conjunto el 33.6% de la población caprina en el Perú.

El conocimiento sobre la variabilidad genética intra e interpoblacional, proporciona información crucial tanto para la conservación, como para la salud pública, la sustentabilidad y la productividad pecuarias, la domesticación y la biomedicina (Piñero *et al.*, 2008). La FAO (2015) recomienda mejorar el conocimiento sobre la diversidad de los recursos ganaderos, los cuales se encuentran en una situación vulnerable, ya sea por el uso de germoplasma foráneo, introgresión genética, variaciones en los sistemas de producción, atención en un único rasgo productivo, catástrofes naturales y humanas, u otros factores. Por ende, para generar una gestión adecuada de estos recursos es necesario reforzar su investigación.

Dada la importancia socioeconómica actual y potencial de la cabra criolla de los departamentos de Piura y Lima, departamentos que contienen algunas de las mayores poblaciones caprinas del Perú, la no sostenibilidad de estos recursos provocaría un impacto socioeconómico importante.

Esta investigación busca analizar la diversidad genética y determinar la posible estructuración genético poblacional de la cabra criolla de los departamentos de Piura y Lima mediante el uso de un conjunto de marcadores microsatélites.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Diversidad genética

De acuerdo con la FAO (1999), la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación, se define la diversidad biológica o biodiversidad, como “la variación de la vida en todas sus formas, niveles y combinaciones, incluyendo la diversidad genética, la diversidad en las especies y la diversidad en los ecosistemas”. Por lo tanto, podemos evaluar la variabilidad en cada uno de los estratos de un ecosistema: la de especies dentro de un ecosistema, la de una raza o población dentro de una especie, la que existe dentro de esa población o la de dentro de un individuo, comprendiéndose la variabilidad total como la combinación de todos esos niveles de variación (García, 2008).

En específico, podemos evaluar la variabilidad o diversidad genética como un factor de la biodiversidad, definiéndose como las variaciones heredables que ocurren dentro de los diferentes niveles de un ecosistema (García, 2008).

2.2 Conservación de la diversidad genética en el ganado

El interés en la conservación de la variabilidad genética de las poblaciones silvestres es debido principalmente a su valor para el mantenimiento de los ecosistemas. En cuanto a las especies domésticas, como el ganado, se añade el interés de su valor productivo para el ser humano (García, 2008).

La viabilidad y adaptación de una población a ambientes de producción cambiantes son garantizadas si se posee recursos genéticos lo suficientemente amplios (Barker, 1999; CIRAD e INRA, 2002; Oldenbroek y Gandini, 2007). Ante la presencia de un reto adaptativo proveniente de cambios productivos, como cambios en las preferencias del consumidor que promuevan el cambio en los objetivos de selección animal o el

surgimiento de nuevas enfermedades; la conservación de la variabilidad genética puede actuar como una medida de salvaguarda.

Como medida de protección, también actúa cuando el tamaño poblacional de una especie se reduce, debido a las plagas, guerras o desastres naturales. Las amenazas de armas biológicas y epidemias que han ocurrido en la actualidad, han provocado que los gobiernos sean más conscientes sobre la importancia de la conservación de los recursos zoogenéticos. Una alternativa relativamente barata y rápida de poder restablecer una especie o población en caso de que esta esté al borde de la extinción podría ser mediante la creación de una reserva de germoplasma, lo cual garantiza la sostenibilidad de los sistemas de producción de alimentos en una nación (García, 2008).

Asimismo, la variabilidad genética permite el estudio científico. Si no existiese suficiente diversidad no se podrían realizar las diferentes líneas de estudio orientadas al reconocimiento de genes influyentes en la calidad de los productos, en características productivas, o aquellas asociadas con la susceptibilidad o resistencia a enfermedades particulares. La posibilidad de realizar cruzamientos dirigidos y la existencia de razas muy diferentes posibilita disponer de una diversidad alélica, desequilibrio de ligamiento y condición de heterocigosis necesarios para identificar probables asociaciones de genes con marcadores moleculares de ubicación conocida, o dicho en otras palabras, para identificar regiones del genoma que tienen alguna influencia con las características de interés (Oldenbroek, 2007).

La pérdida de todos estos beneficios es causada por la reducción en la variabilidad genética y podría dirigir a una especie o raza a su extinción más allá del efecto de agentes externos. Asimismo, el deterioro progresivo de una especie podría ocurrir debido a un deficiente plan de conservación de la variabilidad genética o a una ausencia de ella. En poblaciones pequeñas, cuando no se realiza un programa de apareamientos dirigidos a la obtención de mínimo parentesco o mínima consanguinidad, los valores de endogamia podrían aumentar, lo que resulta en depresión consanguínea (susceptibilidad a determinadas patologías, infertilidad, entre otros.). Este perjuicio, a su

vez, causa un decremento de los valores reproductivos y una reducción en el índice de crecimiento poblacional, generando que el tamaño poblacional se reduzca aún más (Gilpin, 1986).

2.3 La especie *Capra hircus*

2.3.1 Taxonomía

Taxonómicamente las cabras están incluidas en el orden Artiodactyla, familia Bovidae y tribu Caprini. La tribu Caprini incluye diferentes miembros, entre ellos las especies conocidas como ovejas y cabras.

Las cabras están incluidas en cuatro géneros: *Capra*, *Hemitragus*, *Nilgiritragus* y *Arabitragus*. Las tres últimas son monotípicas: *Hemitragus jemlahicus* (Smith, 1826), encontrada de forma nativa en la región de Himalaya (India del norte, China y Nepal); *Arabitragus jayakari* (Thomas, 1894), encontrada en Omán y en los Emiratos Árabes Unidos; y *Nilgiritragus hylocrius* (Ogilby, 1838), encontrada en las montañas de Nilgiri y áreas adyacentes en el sur de la India (IUCN, 2018).

Por otro lado, no hay un consenso sobre el número de especies del género *Capra*. Todas las especies existentes podrían ser consideradas como una sola, ya que estas pueden reproducirse y dejar descendencia fértil en cautiverio (Couturier, 1962; Herre y Röhrs, 1995 citado en Schaller, 1977; Manceau *et al.*, 1999; Groves y Grubb, 2011). Sin embargo, en la actualidad, basándose principalmente en criterios morfológicos (Shackleton, 1997; Ropiquet y Hassanin, 2006; Groves y Grubb, 2011; IUCN, 2018), nueve especies son reconocidas por la mayoría de científicos, entre las cuales se encuentra la cabra doméstica (*Capra hircus* Linnaeus, 1758), la que es sujeto de estudio en el presente trabajo.

2.3.2 Origen y distribución

Los registros fósiles sugieren que el género *Capra* surgió primero en Asia Central (Pilgrim, 1947) y que la diversificación de especies ocurrió en el Plio-pleistoceno (Pilgrim, 1947; Hartl *et al.*, 1990). Muy pocos registros paleontológicos están disponibles para las especies del género, debido a que su hábitat principalmente montañoso no era favorable para la preservación de fósiles (Simpson, 1945). Por consiguiente, la historia evolutiva de sus especies no está bien comprendida. Además, que su diversificación aparentemente ocurrió rápidamente (Hartl *et al.*, 1990; Manceau *et al.*, 1999), dificultando la evaluación del número de especies y sus relaciones filogenéticas.

Estudios genéticos de ADNn (Pidancier *et al.*, 2006) y ADNm (Takada *et al.*, 1997; Manceau *et al.*, 1999) han confirmado que el ancestro del caprino doméstico, *C. hircus*, es la caprino silvestre Bezoar o Cretan, *C. aegagrus cretica* (Clutton-Brock, 1981; Zeder y Hesse, 2000).

Los estudios de ADNm confirmaron la presencia de seis haplogrupos en el caprino doméstico. En base a los haplogrupos hallados se propuso que, posiblemente, la domesticación primaria ocurrió en 02 regiones: la primera estaría comprendida por la parte sur del monte Zagros y la meseta central iraní, aunque el aporte de esta área a la población que actualmente existe de caprino doméstico sería baja (1.40%) y la segunda, considerada como la más importante, comprendería el norte y centro del monte Zagros y el este de la península de Anatolia (ubicada en Turquía) (Naderi *et al.*, 2008).

Sin embargo, también se propuso otra área de domesticación, como es el espacio abarcado entre el noroeste de la India y el noreste de Afganistán a Paquistán (Porter, 1996).

El caprino doméstico tiene una distribución prácticamente global, a excepción de los trópicos muy húmedos y las zonas polares, habiéndose identificado más de un centenar de razas caprinas (Acharya, 1992).

Se asume que el caprino doméstico llegó a América en 1493, en el 2^{do} viaje de Cristóbal Colón, siendo su propósito el de proveer de carne y leche durante el proceso de colonización de nuevos territorios (Cordero, 2003; DGI-MINAG, 2008).

Existen evidencias de que los primeros ovinos y caprinos, con rumbo al continente americano, fueron trasladados por Cristóbal Colón y otros individuos desde las Islas Canarias (Arch. de Sevilla, 1993, como se alude en Wernicke, 1937).

Según Laguna (1991), las razas caprinas Castellana de Extremadura y Blanca Celtibérica fueron las que se introdujeron originalmente al Perú. Estas mismas, después de numerosas generaciones llevaron a la mejor adaptación de la especie al medio americano dando como resultado a la cabra criolla, la cual representa aproximadamente el 80% de la población caprina en el Perú (Arroyo, 1998), sin embargo, en la actualidad, ya no se puede decir que la cabra criolla peruana descende prácticamente solo de estas cabras españolas, debido a que a partir de aproximadamente 1950, se han realizado cruces con la razas Saneen, Alpina, Oberhasli, Toggenburg, Boer, Angora, Nubian y, en especial, la Anglonubiana, la cual tiene un mayor influjo en el caprino criollo contemporáneo (Luna de la Fuente, 1968; Arroyo, 1998; DGI-MINAG, 2008, Sarria 2016 (comunicación personal)). La raza Saneen es originaria del valle de Saneen (Suiza); las razas Alpina y Oberhasli, de los Alpes de Suiza; la Toggenburg del Valle de Toggenburg (Suiza); la Nubian del valle de Nilo (Egipto); la Boer de Sadáfrica; la Angora de la ciudad de Ankara (Turquía); y la raza Anglonubiana de Inglaterra.

Según el último Censo Nacional Agropecuario (INEI, 2012) la distribución del ganado caprino es la que se muestra en la Figura 1, siendo Piura (25.1%) y Lima (8.5%) el primer y cuarto departamento con mayor tamaño poblacional, los cuales representan en conjunto el 33.6% de la población caprina en el Perú. Asimismo, en el 2016, estos departamentos fueron los mayores productores de carne de caprino del país (DGI-MINAG, 2008).

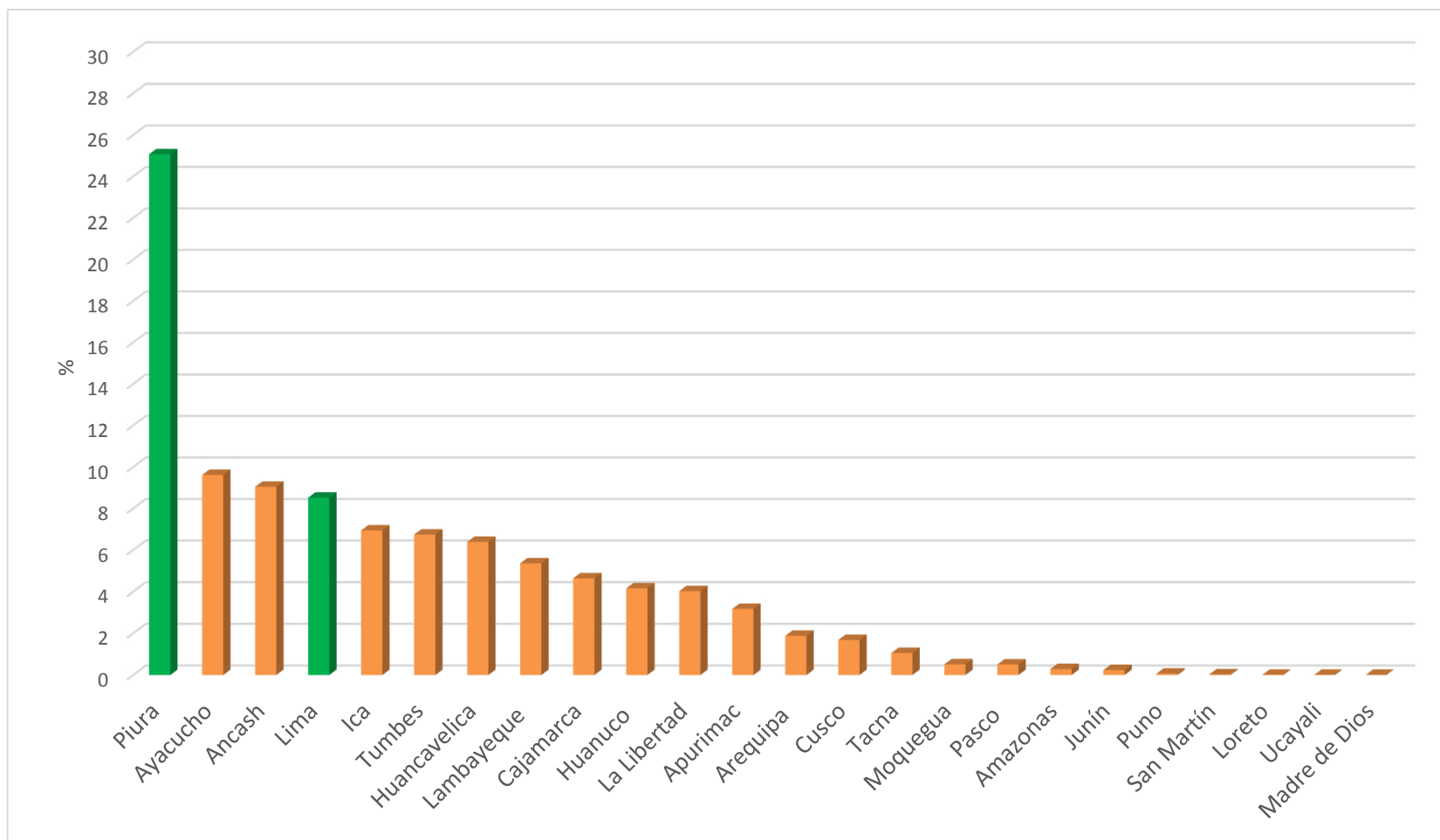


Figura 1: Distribución por departamento del ganado caprino en el Perú (INEI, 2012).

2.3.3 Importancia de la cabra criolla peruana

La crianza de ganado caprino representa una de las más importantes fuentes de alimento e ingreso para numerosas familias en la costa y sierra del país; produciendo carne, leche y sus derivados, cuero, abono, entre otros. La cabra criolla es un animal manso y de fácil crianza, ya que esta no necesita mucho espacio; asimismo, presenta una madurez sexual rápida, logrando su primera parición al año y seis meses. Además, se repone con mayor celeridad de periodos de deficiente alimentación, presenta una mayor resistencia a las enfermedades que otras especies de ganado y posee pocos problemas de fertilidad (DGI-MINAG, 2008).

La leche de cabra contiene ácidos grasos de menor tamaño que los encontrados en la leche de bovinos, lo cual está relacionado con una mayor digestibilidad y absorción (Alais, 1984; Burrows, 2003; Richardson, 2004), siendo especialmente útil para personas con problemas del sistema digestivo como la gastritis (Paez y Maggio, 1997). Posee entre 1 y 13 % menos lactosa que la leche de vaca y hasta 41 % menos que la leche humana, lo cual está directamente asociado con un menor número de problemas relacionados a la intolerancia (Richardson, 2004). Presenta menos α -s1-caseína que la leche bovina y más α -s2-caseína, la cual es menos alérgica (Burrows, 2003). Asimismo, las personas con déficit de calcio, como mujeres en estado de menopausia o personas con osteoporosis, podrían beneficiarse de su consumo; ya que, presenta un 15 % más de este mineral con respecto a la leche de vaca (Burrows, 2003).

Además, la cabra criolla requiere de una baja inversión en su crianza y se presenta como una conveniente actividad complementaria a la agricultura, debido a que puede consumir los subproductos agrícolas y controlar la vegetación invasora (DGI-MINAG, 2008).

Además, se encuentra asociada a diversos esquemas simbólicos y culturales (Gómez, 2013), ya que puede ser indicativa de poblaciones donde el uso de este recurso es su

principal fuente de sustento. En estos casos, puede formar parte de manifestaciones artísticas y literarias, lo cual refleja el impacto de esta raza de cabras en su estilo de vida. No menos importante es su uso en la producción de antivenenos (DGI-MINAG, 2008).

2.4 Marcadores usados para la caracterización genética

Hoy en día se usan tanto datos morfológicos como moleculares para determinar la diversidad dentro de las poblaciones; sin embargo, existen polémicas sobre qué clase de datos pueden proveer de información adecuada, debido a que es común la discrepancia entre los resultados de datos morfológicos y datos moleculares (Hillis y Wiens, 2000).

Los datos moleculares tienen ciertas ventajas, como trabajar directamente con la base genética de la diversidad, mientras que ésta se asume en la mayoría de los caracteres morfológicos. En las investigaciones morfológicas, los caracteres deben ser delimitados y descubiertos generalmente sin un concepto claro de las homologías, por lo que la codificación o selección del carácter usado tiene el potencial de ser arbitrario (Hillis y Wiens, 2000).

Los marcadores moleculares se definen como características informativas de moléculas de ADN o de sus productos de expresión, aunque comúnmente nos referimos a estos como segmentos de ADN.

En la actualidad, las proporciones de alelos en las poblaciones naturales se pueden hallar a partir de numerosas técnicas. Por ejemplo, de forma indirecta, mediante proteínas, o de manera directa, utilizando el ADN. Los marcadores moleculares pueden ser de clase codominante o dominante según su capacidad de detectar solo uno de los alelos o ambos, así mismo, pueden detectar variaciones en un solo locus o ser de tipo multiloci (Simpson, 1997).

2.5 Marcadores microsatélites

2.5.1 Composición, polimorfismo y distribución

Los microsatélites (SSRs o STRs) son segmentos de ADN constituidos por repeticiones de motivos nucleotídicos de 1 - 6 pb (Hancock, 1999). Los motivos (CA)_n son los más utilizados por ser los de mayor abundancia en los mamíferos; de manera opuesta, los motivos (GC)_n tienen una baja presencia o incluso una total ausencia (Tautz *et al.*, 1989).

El gran polimorfismo en los microsatélites sería producto de dos procesos mutacionales: el entrecruzamiento desigual (*unequal crossing over*) y el incorrecto emparejamiento de las cadenas de ADN tras un evento de deshibridación (*slipped strand misspairing*). En la duplicación del ADN, las cadenas que están temporalmente separadas pueden volverse a hibridar en posiciones distintas. Cuando el deslizamiento sucede en la cadena parental, ocurre un decremento en la cantidad de repeticiones del STR. Cuando el deslizamiento ocurre en la hebra que se sintetiza se genera un incremento (Korkmaz Ağaoğlu & Ertuğrul, 2012)(Li, 1997).

Otro proceso es el desigual entrecruzamiento en la recombinación, lo cual causa el incremento de repeticiones en un cromosoma y la pérdida en la otra. Por otro lado, también ocurren mutaciones en ausencia de recombinación. Por ejemplo, las mutaciones en el genoma mitocondrial y del cloroplasto (Oliveira *et al.*, 2006).

Los microsatélites se han encontrado tanto en genomas de procariontes como eucariontes, encontrándose, en este último grupo, distribuidos uniformemente en todos los cromosomas (Litt y Luty, 1989) y con al menos un STR cada 10 000 pares de bases (Tautz *et al.*, 1989), tanto en regiones codificantes como no codificantes.

Específicamente en animales domésticos, se ha observado que están poco representados en la región telomérica y centromérica (Winterø *et al.*, 1992).

2.5.2 Clasificación de los STRs

Se pueden clasificar de acuerdo a la cantidad de nucleótidos que tenga el motivo de repetición (P. ej. mono, di, tetra, penta o hexanucleótido) o aquella que incluya el patrón de orden de los motivos (Tabla 1).

Tabla 1: Clasificación de microsatélites por el patrón de orden de los motivos.

Puros
No interrumpidos 01 motivo repetido “n veces” en serie. P. ej. (AC) ₉
Interrumpidos 01 motivo repetido “n veces” en serie, donde se intercalan nucleótidos entre las diferentes repeticiones. P. ej. (AC) ₂ AA(AC) ₁₂
Compuestos
No interrumpidos 02 o más motivos diferentes repetidos en serie. P. ej. (GT) ₂ (TG) ₁₀
Interrumpidos Presenta al menos un segmento de nucleótidos intercalados entre motivos distintos. P. ej. (GT) ₂ CTA(TG) ₁₀

2.5.3 Ventajas y limitaciones de los STRs en estudios de diversidad genética

Los STRs han tienen cierta ventaja sobre otros marcadores moleculares como los RFLPs, AFLPs y RAPDs, debido a que: i) segregan según los principios mendelianos; son codominantes (permite evidenciar la contribución materna y paterna); ii) tienen el más alto grado de variabilidad y iii) la presencia de un solo locus por STR hace que la lectura de las bandas en gel sea fácil y clara de analizar (Golstein y Pollock, 1994; Vendramin *et al.*, 1996).

El alto polimorfismo en el tamaño y su codominancia permite que puedan ser estudiados como electromorfos, reduciendo el costo y tiempo de la genotipificación cuando se necesita evaluar numerosos loci e individuos.

Se ha probado y corroborado en muchas investigaciones con poblaciones rumiantes que los microsatélites son útiles para estudiar la variabilidad genética y estimar las distancias génicas entre los individuos y sus poblaciones (Kemp *et al.*, 1995; Ellegren *et al.*, 1997). Así mismo, ya que existe una considerable semejanza cromosómica entre caprinos, ovinos y bovinos, los microsatélites están considerados como una de las herramientas más poderosas para estudios genético-poblacionales en ganado (Beaumont *et al.*, 1999; Sunnucks, 2000).

A pesar de presentar muchas ventajas, los STRs poseen varias limitaciones que pueden complicar el análisis de los datos, y en el peor de los casos limitar su utilidad. Favorablemente, muchas de las limitaciones frecuentes de los STRs pueden ser evitadas siguiendo una adecuada elección de los loci.

Se requiere conocer la secuencia del STR y su región flanqueante para poder diseñar cebadores o *primers* específicos que lo impliquen, asimismo, estos podrían ser usados en especies relacionadas, incluso de distinto género (Golstein *et al.*, 1996), lo cual faculta la ejecución de estudios comparativos, aunque raramente amplifique para un grupo taxonómico amplio, por lo que nuevos cebadores son sintetizados para cada nueva especie. Y aunque el proceso de aislamiento de nuevos marcadores SSR se ha vuelto más rápido y más económico, existen algunos taxones en donde el proceso de aislamiento de microsatélites presenta una alta tasa de error, como el caso de invertebrados marinos, lepidópteros y aves (Selkoe y Toonen, 2006).

Los procesos mutacionales de las regiones microsatélites son muy complejos y para la mayoría de aplicaciones no es importante saber exactamente el mecanismo mutacional de cada locus, sin embargo, varios estadísticos basados en frecuencias alélicas (por

ejemplo, F_{ST} y R_{ST}) necesitan explícitamente de un modelo mutacional. El modelo de los alelos infinitos (IAM) es el modelo más simple, y aunque exista un modelo específico para microsatélites, como el modelo mutacional por pasos (SMM), el IAM sigue siendo usado por su robustez y confiabilidad, además de no ser tan sensible a violaciones al modelo (Selkoe y Toonen, 2006).

La identificación de diferentes alelos de los microsatélites se basa en la diferencia del tamaño de éstos, pero existen alelos del mismo tamaño que no provienen de un antecesor común, un fenómeno denominado homoplasia. La homoplasia puede limitar la diversidad alélica visible de las poblaciones y puede inflar las estimaciones del flujo génico cuando la tasa de mutación es alta. En general, la homoplasia es una fuente mínima de errores para estudios de genética poblacional en organismos cuya historia es reciente, o con un tamaño poblacional efectivo moderado debido a que la probabilidad de que exista homoplasia es inversamente proporcional a la distancia genética. Por esta razón, la homoplasia puede representar un problema cuando se estudian grupos altamente divergentes, loci de alta tasa de mutación o en estudios de reconstrucción filogenética (Selkoe y Toonen, 2006).

Las regiones de unión a cebadores para la amplificación de microsatélites deben ser regiones conservadas. Si ocurren mutaciones en estas regiones, algunos individuos tendrán solo un alelo o ningún alelo amplificado, por lo que algunos loci no podrían utilizarse debido a problemas de amplificación (Selkoe y Toonen, 2006). A estos alelos que no pueden ser amplificados por mutaciones en la región complementaria al cebador se les denomina alelos nulos (Wang *et al.*, 2009).

La mayor limitación de la tecnología de microsatélites es la gran cantidad de trabajo necesario para el desarrollo previo de los marcadores (Ferreira y Grattapaglia, 1998). Este trabajo requiere de una inversión de recursos económicos y la experiencia técnica requerida para el clonamiento y secuenciación de los loci STR (Yañez, 2002); sin embargo, el desarrollo de nuevas tecnologías de secuenciamiento (NGS, principalmente las tecnologías illumina y 454), ha conducido a la reducción en su costo. Actualmente,

las grandes colecciones de secuencias EST y genómicas han hecho posible la identificación *in silico* de marcadores STR, siendo estas posteriormente validadas mediante experimentos (Zalapa *et al.*, 2012).

Una dificultad presente durante la amplificación de las regiones microsatélites es el deslizamiento de la polimerasa, debido a las repeticiones de los SSRs. Cuando los productos de PCR son separados por electroforesis, picos adicionales pueden ser observados. Estos picos adicionales se denominan picos tartamudos y son artefactos del PCR o productos no específicos usualmente de unas repeticiones más cortas de longitud, de menor cantidad y de intensidad más débil que los verdaderos alelos microsatélites. Algunos picos tartamudos interpretados como verdaderos alelos pueden afectar los análisis, sin embargo, estos picos tartamudos también pueden ser de gran ayuda para diferenciar a verdaderos alelos de otros artefactos (Wang *et al.*, 2009).

Del mismo modo, los amplificados con una adenina de más (picos adenilados) también pueden confundir la identificación de los verdaderos alelos (Butler, 2005). La ocurrencia de estos artefactos dificulta la lectura de los electroferogramas porque los artefactos pueden ser confundidos con alelos, lo cual complica la precisión del genotipado.

Finalmente, la presencia de alelos nulos puede sobrestimar la homocigosis de una población conduciendo a desviaciones del equilibrio Hardy-Weinberg (EHW). Además, debido a que los alelos nulos disminuyen la variabilidad genética aparente, pueden inflar los niveles de diferenciación genética y afectar el análisis genético poblacional que depende del EHW (Carlsson, 2008).

2.6 Fases para la obtención de datos de microsátélites

Para la obtención de datos de STRs se deben seguir una serie de procesos, los cuales pueden ser agrupados en 03 pasos: extracción de ADN, amplificación y genotipificación.

2.6.1 Extracción de ADN

En los recursos zoogenéticos, el material biológico para la extracción de ADN suele ser sangre, debido a que se puede obtener una mayor cantidad y calidad de ADN. Por otro lado, los folículos pilosos también se utilizan debido a su facilidad de colecta (FAO, 2015) y para servir como resguardo de otros tejidos. Sin embargo, estos tejidos presentan sustancias que podrían afectar a posteriores aplicaciones.

En la sangre, el grupo hemo de la hemoglobina forma enlaces con iones como el Mg^{2+} , el cual es un cofactor de la ADN polimerasa. Esta unión podría inhibir la polimerización de ADN necesaria en la PCR. Para evitarlo se suele utilizar un agente quelante como el EDTA.

En los folículos pilosos, un inhibidor de la PCR es la melanina, la cual podría reducirse disminuyendo la cantidad de tallo de pelo. Además, se suele usar DTT (ditiotreitól) para degradar la queratina, la cual podría afectar al proceso de aislamiento de ADN.

2.6.2 Amplificación mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

La PCR es una técnica que permite obtener a partir de una única molécula de ADN, millones de copias *in vitro*. Se fundamenta en la duplicación celular, en la que participan diversas proteínas para generar una nueva hebra de ADN a partir de una predecesora que utiliza como molde.

La técnica de PCR emula lo que acontece en el proceso de duplicación de ADN. En un medio de pH estable, la ADN polimerasa se activa mediante la incorporación de magnesio u otro co-factor y reconoce los extremos 3' de los cebadores, comenzando la polimerización por medio de la incorporación de desoxiribonucleótidos trifosfato (dNTPs)

(Espinosa, 2007). Así mismo, las proteínas que participan en la duplicación del ADN son reemplazadas por cambios de temperatura en ciclos repetidos.

El tamaño de los microsatélites no es largo, lo que facilita su amplificación por PCR utilizando ADN aislado de diversas muestras, tales como folículo piloso, tejido sanguíneo, piel, músculo e incluso material fecal.

Desde la invención de la PCR, se han registrado ciertos inhibidores que obstaculizan la amplificación (Rossen *et al.*, 1992; Wilson, 1997). Un potente inhibidor de la PCR es la melanina presente en el pelo (Kreader *et al.*, 1996), de igual manera, la hemoglobina en la sangre. Estos inhibidores provocan inconvenientes, como una menor tasa de amplificación o hasta una ausencia de reacción (Ramakers *et al.*, 2003). Sin embargo, existen sustancias que posibilitan contrarrestar los efectos inhibitorios; entre ellos, un reactivo que ha tenido un uso extendido por su gran eficacia es el BSA (Bovine serum albumin) (Akane *et al.*, 1993).

Los STRs son amplificados mediante PCR, usando cebadores que se hibridan en las regiones flanqueantes. Si la discriminación alélica se realiza mediante electroforesis capilar en secuenciador automático se utilizarán cebadores fluoromarcados (en el extremo 5' del cebador) o cebadores con una secuencia complementaria al cebador universal M13, el cual se encontrará fluoromarcado.

Los fluoróforos pueden detectarse y diferenciarse debido a que emiten radiaciones (colores) a distinta longitud de onda. Por lo que, los cebadores pueden ser marcados con diferentes fluoróforos y de esta manera amplificar y detectar diversos loci en 01 reacción (PCR Multiplex), lo cual permite la reducción del costo y el tiempo de las amplificaciones. Los fluoróforos más usados emiten señales amarillas (dTAMRA, NED), verdes (VIC, HEX, dR6G), rojas (PET, dROX) y azules (dR110, 6-FAM). Finalmente, para seleccionar los fluoróforos con los que los cebadores serán marcados, es necesario considerar el rango de tamaño de cada uno de los locus que se va a amplificar.

2.6.3 Genotipificación

La Genotipificación o caracterización genética es el proceso de determinación del genotipo de un organismo biológico.

Para determinar el genotipo de los individuos se pueden emplear dos clases de técnicas: el secuenciamiento y la estimación del tamaño de electromorfos. En cuanto a esta última, el tamaño de los alelos puede ser identificado en geles de poliacrilamida, agarosa o por electroforesis capilar en un secuenciador; teniendo esta última la ventaja de ser la técnica de mayor resolución y la más rápida que existe actualmente (Cornejo *et al.*, 2014).

Los descuidos cometidos en el muestreo, aislamiento de ADN, amplificación y evaluación de los fragmentos de ADN puede provocar inexactitudes en el genotipado de STRs. Estos errores pueden alterar los resultados y la interpretación que se realice con respecto a las relaciones de parentesco, tasas de migración, estructura poblacional, tamaño efectivo y variabilidad genética (Hoffman y Amos, 2005). En el año 2003, con base a esta posibilidad de error, la revista *Molecular Ecology* encontró que el 6% de 125 artículos poseían imprecisiones concernientes a los alelos *dropout*, es decir a aquellos alelos que no amplificaron por una razón distinta a la de los alelos nulos (Bonin *et al.*, 2004). Este tipo de error podría ocurrir cuando los alelos de un locus son de tamaño muy diferente, lo cual frecuentemente provoca que el alelo de menor tamaño amplifique primero, en perjuicio del alelo de mayor tamaño; asimismo, el alelo de mayor de tamaño podría no ser detectable si la cantidad de ADN es reducida o se encuentran presentes muchos inhibidores (Björklund, 2005). Por otro lado, a pesar de tener la cantidad y calidad de ADN adecuada, se pueden cometer descuidos, como los concernientes a los alelos nulos, homoplasia, SSR multiloci y la aparición de artefactos (Gómez, 2013):

I) Homoplasia

Ocorre cuando 02 alelos tienen el mismo tamaño, pero una diferente secuencia nucleotídica (Estoup y Cornuet, 1999). Si se utiliza PCR y electroforesis en el análisis, este fenómeno puede pasar inadvertido dado que solo podría detectarse por secuenciación (Aranguren-Méndez *et al.*, 2005).

II) Alelos nulos

Ocorre siempre que uno o más alelos no amplifiquen en algún genotipo o lo hagan de forma no detectable, debido a que la región complementaria al cebador ha mutado (Picó y Esteras, 2012). Este error podría aumentar la homocigosis al no amplificar uno de los alelos de un individuo heterocigoto (Dawson *et al.*, 1997).

III) SSR multiloci

Mediante el proceso de duplicación de genes, en algunas ocasiones los cebadores pueden alinearse en dos o más loci duplicados, lo cual genera la detección alelos extra, ya sean iguales o diferentes, debido a los distintos procesos evolutivos de cada gen (Picó y Esteras, 2012).

IV) Artefactos

El análisis de las bandas en geles o electromorfos también puede dificultarse por la presencia de bandas o picos adicionales (artefactos) producidos en la amplificación por PCR o durante la electroforesis (Picó y Esteras, 2012).

2.7 Análisis estadístico

2.7.1 Análisis de la diversidad genética

La diversidad genética representa las variaciones del ADN, lo que a su vez podría resultar en proteínas de diferente composición y estructura, pudiendo generar diferencias en las características fenotípicas.

La diversidad genética puede ser medida de diferentes formas. A continuación, se muestran algunas de ellas, así como algunos conceptos que servirán para cuantificarla.

Contenido de información polimórfica (PIC)

Existen dos medidas de la calidad informativa de un marcador genético: la heterocigosidad esperada (Nei, 1973) y el contenido de información polimórfica (PIC) (Botstein *et al.*, 1980); sin embargo, el más ampliamente usado para estudios de diversidad genética es el PIC (Nagy, 2012), el cual utiliza tanto la cantidad de alelos detectable (grado de polimorfismo) como la información de sus frecuencias; y se calcula como:

$$PIC = 1 - \left(\sum_{n=1}^l f_n^2 \right) - \sum_{n=1}^{l-1} \sum_{m=n+1}^l 2f_n^2 f_m^2$$

En donde, l = número de alelos; f_n y f_m es la frecuencia de los alelos n -ésimo y m -ésimo, respectivamente.

La clasificación de Botstein *et al.* (1980), se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2: Clasificación de valores de PIC

PIC > 0.5	“Altamente informativo”
0.25 ≤ PIC ≤ 0.5	“Medianamente informativo”
PIC < 0.25	“Poco informativo”

Prueba de presencia de alelos nulos

Los alelos nulos en STRs son aquellos que no han amplificado o cuya amplificación no es detectable debido a mutaciones en la región complementaria al cebador. Una alta tasa alelos nulos aumentaría la homocigosidad con respecto a las proporciones Hardy-Weinberg (Allendorf y Luikart, 2007). Por otro lado, en estudios de genética de poblaciones con STRs, la proporción de alelos nulos se utiliza como un indicador de fiabilidad. Esta proporción se calcula utilizando las proporciones observadas y esperadas de la población estudiada (Chapuis y Estoup, 2006).

Número de alelos (n)

El número de alelos por locus (n_m) es el número de alelos distintos por locus en una población. El número total de alelos (n_{total}) es la suma del número de alelos distintos de los “r” loci estudiados.

$$n_{total} = \sum_{m=1}^r n_m$$

Donde, r = número de loci

El número medio de alelos por locus ($n_{m_{prom}}$) es la suma de todos los alelos distintos detectados en todos los loci, dividido por el número total de loci.

$$n_{m_{prom}} = \left(\frac{1}{r}\right) \sum_{m=1}^r n_m$$

Frecuencia alélica (f)

Es la proporción de un alelo de un locus particular en una población. Asimismo, se asume que un individuo será homocigoto si se observa un solo alelo por locus; por consiguiente, que no existen alelos nulos presentes (Martínez, 2008).

$$f = \frac{\text{número de un alelo en particular en una población}}{\text{número total de alelos en ese locus en una población}}$$

Los alelos poco frecuentes en una población pueden ser clasificados como alelos raros ($0.01 \leq f < 0.05$) o muy raros ($f < 0.01$) (Hale *et al.*, 2012).

Heterocigocidad observada (H_o) y esperada (H_e)

Las medidas de H_o y H_e se utilizan debido a que son las más frecuentes en el análisis del equilibrio H-W y la evaluación de la diversidad dentro de las razas. Aceptamos generalmente que un locus es polimórfico cuando el alelo más común tiene una frecuencia menor a 0.95. La frecuencia de loci polimórficos en una población es una medida de la variabilidad genética. Sin embargo, dado que el valor de 0.95 es arbitrario, una mejor estimación es la H_e media de una población, ya que está estrechamente relacionada con la viabilidad y la consanguinidad. Asimismo, cabe resaltar que el término heterocigosis se utiliza para aludir a la H_o , y el término de diversidad genética para referirnos a la H_e .

La H_e es la frecuencia de individuos heterocigotos detectados:

$$H_{ol} = \sum_i \sum_{j \neq i} \frac{n_{lij}}{n}$$

Donde, l = locus y n_{lij} = número observado de heterocigotos A_iA_j en una población de tamaño n .

Para r loci, la H_o media es el promedio de las H_o en cada locus:

$$H_o = \left(\frac{1}{r}\right) \sum_{l=1}^r H_{ol}$$

La H_e se estima utilizando de las frecuencias alélicas y es igual a la H_o cuando las poblaciones se encuentran en EHW (Martínez *et al.*, 2005). La H_e desde un enfoque matemático, es la posibilidad de que 02 alelos sean distintos si estos se toman al azar

de una misma población (Crow y Kimura, 1970). La H_e se estima, según Nei (1973) de la siguiente forma:

$$H_e = 1 - \left(\sum_{n=1}^r f_n^2 \right)$$

En donde, f_n = frecuencia del alelo n -ésimo y r = número de alelos.

Equilibrio Hardy-Weinberg (EHW)

El equilibrio Hardy-Weinberg supone un gran tamaño poblacional, con apareamiento aleatorio (panmixia) y exento de los procesos evolutivos de selección, mutación y migración. Si se cumplen estos supuestos, las frecuencias genotípicas y alélicas se mantienen constantes entre las generaciones. Debido a que no hay ninguna población que cumpla todos estos supuestos, ya que las poblaciones infringen al menos una de estas suposiciones, lo que estimamos es el valor de la desviación del EHW.

La forma más habitual de estimar si una población se encuentra en EHW es comparar los genotipos esperados con los observados en una muestra, mediante el test de Chi-cuadrado (X^2), el cual es muy útil cuando se poseen pocos alelos en muestras grandes, sin embargo, en los STRs que tienen una gran cantidad de variantes, podrían presentarse muchos genotipos vacíos posibles y poca cantidad de genotipos observados, porque frecuentemente no hay suficientes individuos en la muestra para representar adecuadamente todos los grupos genotípicos. Si esto sucediese, entonces la suposición asintótica de la distribución X^2 no se sostendría. Que la tabla de contingencia contenga por lo menos 05 observaciones podría ser una norma a tener en cuenta para que la magnitud de X^2 sea confiable (Martínez *et al.*, 2005). Estos tipos de problemas pueden ser eludidos usando herramientas computacionales como aquellos que utilizan el test exacto de Fisher (Guo y Thompson, 1992).

Por otro lado, el proceso de Corrección de Bonferroni es usado cuando se realizan varios tests estadísticos al mismo tiempo, debido a que el valor α no es apropiado para para el conjunto de todas las comparaciones, más sí para cada comparación individual. El propósito de esta corrección es evitar un gran número de falsos positivos. Asimismo, para que se tenga en cuenta la cantidad de comparaciones que se realiza, el nivel de significancia necesita ser ajustado. Supongamos que los tests de H-W se realizan en 21 loci. En lugar de usar 0.05 para el valor de alfa, utilizaríamos un nuevo valor de alfa a partir del método de Corrección de Bonferroni (α'):

$$\alpha' = \frac{0.05}{N^{\circ}loci}$$

Esto garantiza que la probabilidad de rechazar una hipótesis nula verdadera (error de tipo I) sea aún menor al valor de 0.05.

2.7.2 Análisis de la estructura genética

Una población podría considerarse como solo una unidad, aunque ante determinados eventos podría estructurarse o subdividirse en poblaciones de menor tamaño. Cuando este suceso ocurre, la relación genética entre cada subpoblación varía de acuerdo al nivel de flujo génico que exista. Una baja estructura genética sugiere poblaciones muy similares, con muy pocas o nulas diferencias en sus proporciones alélicas, de esta manera, lo que evita que las poblaciones sean muy distintas es el flujo génico, el cual ejerce como una fuerza evolutiva de cohesión (Slatkin, 1994; Eguiarte, 2015). A continuación, se presentan algunos estimadores de estructuración genética.

Análisis de varianza molecular (AMOVA)

El AMOVA (Excoffier *et al.*, 1992) es un método para determinar la diferenciación molecular entre poblaciones, así como la distribución de la variación molecular en poblaciones que se encuentran estructuradas en distintos niveles jerárquicos (por ejemplo, una población en estudio es dividida por regiones y estas divididas a su vez en

subpoblaciones). El AMOVA utiliza el distanciamiento genético entre los individuos para comparar y medir el grado de estructuración genética, considerando como hipótesis nula la ausencia de estructura genética. Además, se basa en el ANOVA (Análisis de Varianza), sin embargo, a diferencia de este, puede contener diferentes suposiciones evolutivas sin modificar la estructura básica del análisis y utilizar métodos de permutación que no requieren la suposición de una distribución normal. Así mismo, también permite el cálculo de los estadísticos F y R.

Índices de fijación o estadísticos F (F_{IT} , F_{IS} y F_{ST})

Con el objetivo de evaluar la estructura genética de poblaciones subdivididas, Wright (1951, 1969), propone el uso de los índices de fijación, calculando la variabilidad genética que existe entre y dentro de las subpoblaciones, mediante los valores de heterocigocidad observada y esperada.

La disminución en la H_o puede ser usada para estimar la diferenciación entre las subpoblaciones, ya que una población subdividida muestra frecuentemente valores H_o menores a los esperados (García, 2008). Este cálculo se efectúa utilizando los estadísticos F o índices de fijación (Wright, 1951; Cockerham, 1969); que para definirlos, consideramos previamente los siguientes estadísticos:

H_I : heterocigosis observada media de un grupo de subpoblaciones

H_S : heterocigosis esperada media de un grupo de subpoblaciones

H_T : heterocigosis esperada de la población global

Así, los estadísticos F se definen como:

- F_{IS} o *coeficiente de endogamia*:

$$F_{IS} = 1 - \left(\frac{H_I}{H_S} \right)$$

Mide la desviación de la heterocigosis observada promedio con respecto a la esperada promedio de un grupo de subpoblaciones, en otras palabras, es una medida de la

endogamia promedio en las subpoblaciones, en términos de exceso o defecto de heterocigotos. Este varía entre +01 (ausencia de heterocigotos observados) a -01 (todos los individuos son heterocigotos). Una situación de equilibrio genético (EHW) ocurriría si existiese un valor de 0, es decir, una igualdad de heterocigotos esperados y observados.

- F_{ST} o índice de fijación:

$$F_{ST} = 1 - \left(\frac{H_S}{H_T} \right)$$

Es una estimación de la diferenciación genética entre las subpoblaciones. Representa la proporción de variabilidad genética asignada a las diferencias entre poblaciones, y su complemento. Este oscila de 0 (sin diferenciación genética) a 01 (subpoblaciones fijadas para distintos alelos, es decir, diferenciación completa). Las reglas propuestas por Wright en 1978 para la interpretación del estadístico F_{ST} son las siguientes:

$0 \leq F_{ST} \leq 0.05$ indica: “poca diferenciación genética”.

$0.05 < F_{ST} \leq 0.15$ indica: “diferenciación moderada”.

$0.15 < F_{ST} \leq 0.25$ indica: “gran diferenciación”.

$0.25 < F_{ST}$ indica: “diferenciación muy grande”.

- F_{IT} o índice de fijación conjunto:

$$F_{IT} = 1 - \left(\frac{H_I}{H_T} \right)$$

Estima el desvío de las proporciones genotípicas observadas en la población total con referencia a las esperadas suponiendo la existencia de EHW.

Los parámetros F_{IT} , F_{IS} y F_{ST} están relacionados mediante una ecuación que permite estimar uno de ellos conociendo solo dos:

$$(1 - F_{IT}) = (1 - F_{IS})(1 - F_{ST})$$

Estadístico R_{ST}

Cuando ocurre una mutación en un STR se puede ganar o perder repeticiones, lo que puede generar una diferencia entre los alelos de dicho locus. Debido a ello Slatkin (1995) sugirió una estimación de diferenciación genética (R_{ST}), similar al F_{ST} de Wright (1951) y G_{ST} de Nei (1973); que, a diferencia de estos, toma en cuenta las variaciones en el número de repeticiones entre alelos. Así mismo, el R_{ST} está fundamentado en el SMM, el cual posibilita el cálculo de la estructura poblacional en ausencia de homoplasia (Slatkin, 1995). Su ecuación se representa de la siguiente manera:

$$R_{ST} = \frac{(S - S_W)}{S}$$

Donde S_W y S son los promedios cuadrados de la diferencia de los tamaños alélicos entre pares de alelos entre pares de las poblaciones y dentro de las poblaciones (Balloux y Lugon, 2002).

Agrupamiento de individuos por probabilidades bayesianas

En general, existen dos métodos de agrupamiento que podrían ser usados, los fundamentados en distancia y los fundamentados en modelos. Las metodologías basadas en distancia tienen desventaja en lo difícil que es evaluar el nivel de confianza asignado a las agrupaciones obtenidas. Los métodos fundamentados en modelos incluyen los métodos fundamentados en máxima verosimilitud, los cuales a su vez incluyen los métodos de frecuencia y bayesianos; sin embargo, los métodos bayesianos si pueden usarse con loci que presenten alelos nulos.

Uno de los programas más utilizados para la determinación de la estructura genética de una población mediante un modelo bayesiano es el programa STRUCTURE (Pritchard *et al.*, 2010). Para ello, STRUCTURE utiliza las frecuencias alélicas de diversos loci compartidos entre distintos individuos, asignándolos a una o más poblaciones.

Debido a que las diferencias en los cocientes probabilísticos son leves, este método no siempre permite obtener una respuesta absoluta; no obstante, mediante un test que

utiliza las probabilidades generadas por el programa STRUCTURE, se puede identificar del valor más probable de K como una alternativa complementaria. Este test, que es realizado con el programa STRUCTURE HARVESTER WEB v 0.6.94 (Earl y vonHoldt, 2012), utiliza el método ΔK de Evanno *et al.* (2005) para identificar el mejor número de poblaciones genéticas de una forma más confiable.

Distancias genéticas

Las estimaciones de las distancias genéticas que se utilizan para estudiar las relaciones filogenéticas entre las distintas poblaciones son obtenidas al comparar 02 o más poblaciones a través de sus proporciones alélicas (Menezes, 2005). Los resultados generados con los STRs se utilizan habitualmente en el estudio de las relaciones genéticas entre los individuos y poblaciones, a través de la estimación del distanciamiento genético (Tapio *et al.*, 2005). Una de las medidas de distancias genéticas utilizadas es la D_{ST} de Weir y Cockerham (1984), sin embargo, la distancia genética ponderada de Reynolds suele ser más usada para estimar las distancias genéticas entre poblaciones que se han separado en tiempos recientes.

Los métodos más utilizados para la construcción de dendrogramas son el el NJ (*Neighbor-Joining*) (Saitou y Nei, 1987) y UPGMA (*Unweighted Pair Group Method using Arithmetic Averages*) (Sneath y Sokal, 1973). Según Eding y Laval (1999), el método NJ parece ser una mejor opción cuando se considera distintas tasas evolutivas (). Asimismo, cuando no se cumplen todos los supuestos estadísticos, este enfoque ha demostrado ser el más adecuado (Takahashi y Nei, 2000).

3. HIPÓTESIS

Hipótesis nula

Las poblaciones de cabra criolla de los departamentos de Lima y Piura tienen bajos niveles de variabilidad genética dentro de cada población y una estructuración genética alta entre ambas poblaciones.

Hipótesis alternativa

Las poblaciones de cabra criolla de los departamentos de Lima y Piura presentan niveles de variación genética moderados a altos dentro de cada población. Además, no tienen una estructuración genética alta entre ambas poblaciones.

4. OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar la diversidad y estructura genética de la cabra criolla de los departamentos de Lima y Piura mediante el uso de microsatélites.

Objetivos específicos

Determinar la diversidad genética intra e Inter poblacional de cabras criollas en Lima y Piura

Determinar la estructura genética para las poblaciones de cabra criolla de Lima y Piura

Determinar el grado de endogamia en cada población

Determinar las distancias genéticas entre las poblaciones de Lima y Piura

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Área de estudio

El material de estudio fue colectado en diversos lugares de los departamentos de Lima y Piura (Figura 2), durante el mes de junio del 2016 y marzo del 2017, respectivamente (los lugares georreferenciados de muestreo se pueden consultar en el Anexo 3). Se colectaron 269 muestras, 187 del departamento de Lima y 82 de Piura (Tabla 3).

Hale *et al.* (2012) sugieren que el mínimo tamaño muestral en estudios de diversidad genética basado en frecuencias alélicas de microsatélites es de 25 a 30 individuos diploides por población. Tamaños muestrales más elevados no afectarían significativamente a la precisión de las frecuencias alélicas y estimadores de diversidad genética, siendo estos más importantes que la detección de todos los alelos, dado que los alelos muy raros proveen poca información útil para la mayoría de análisis basados en poblaciones.

Tabla 3: Número y procedencia de cabras criollas muestreadas en los departamentos de Lima y Piura.

Departamentos	Provincias	Distritos	N° de individuos
Lima	Huaral	Chancay	21
		Huaral	51
	Huaura	Vegeta	16
		Sayán	25
		Huaura	50
	Canta	Santa Rosa de Quives	24
Piura	Piura	Piura	4
		Castilla	9
	Morropón	Tambo Grande	21
		Chulucanas	48

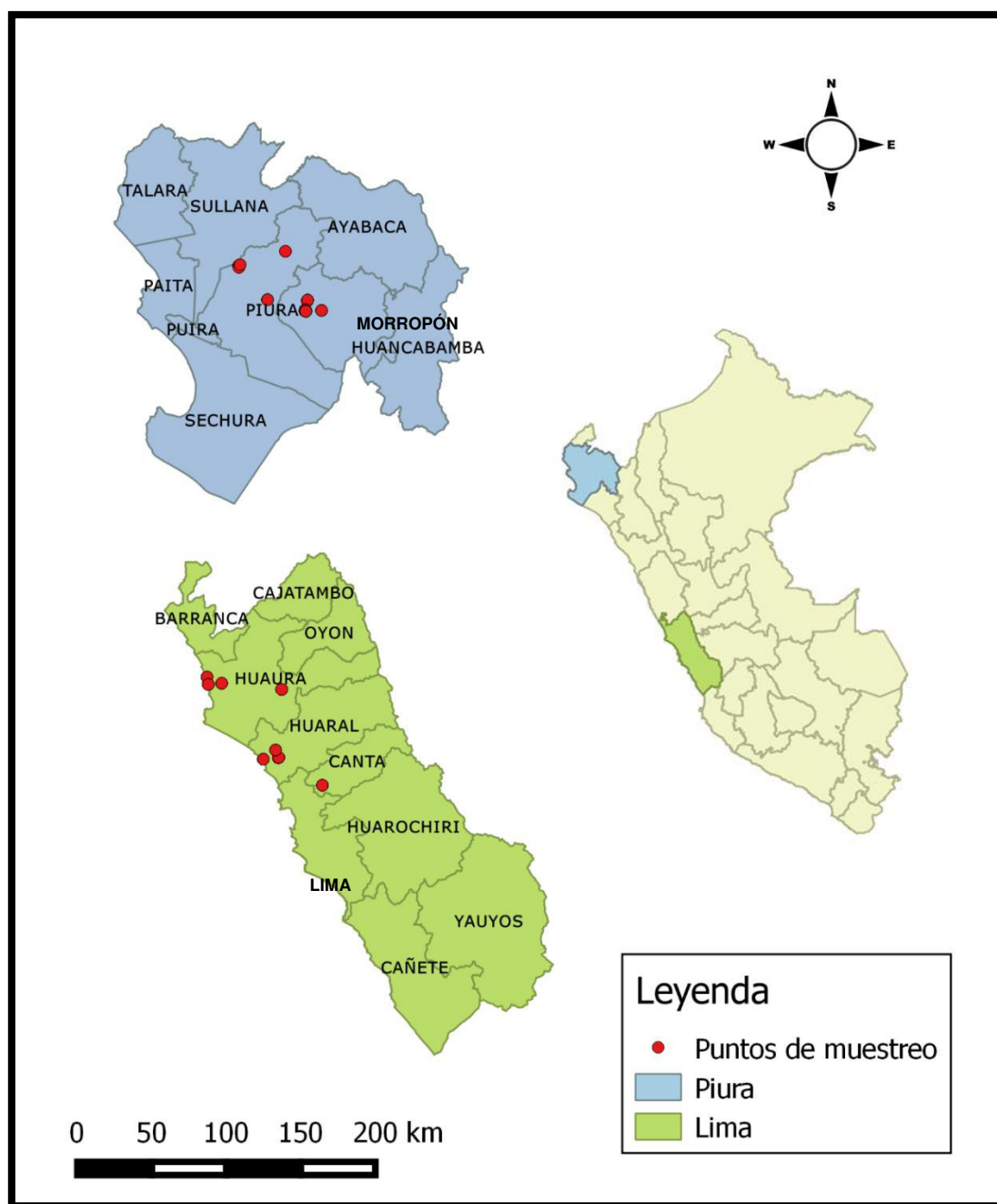


Figura 2: Ubicación de los puntos de muestreo en los departamentos de Piura y Lima.

5.2 Colecta de muestras

Las razas puras tienen ciertas características fenotípicas distinguibles (SEIDRS, 2000), las cuales se usaron para discriminar al organismo de estudio, la cabra criolla.

Luego de identificar la población criolla y mediante un muestreo aleatorio, se sujetó al animal de la cabeza, los cuernos (si los tuviese) y los lados para inmovilizarlo. Posteriormente, se procedió a la obtención de sangre y folículos pilosos (Figura 3).

Además, se marcó a los individuos muestreados, lo cual permite que puedan caracterizarse morfológicamente en investigaciones posteriores y realizar un contraste con la información molecular.

Se recolectó información descriptiva de cada uno de ellos (Anexo 2), así como datos relevantes sobre el ganado caprino de procedencia (Anexo 1). Esto permitió contrastar la información sobre el tipo de crianza, alimentación, traslado de reproductores entre las poblaciones, principal uso del recurso, así como el tipo de cruzamiento.

Asimismo, se utilizaron individuos raza Saanen como grupo externo debido a su cercanía filogenética y por su disponibilidad en el banco de ADN del INIA.

5.2.1 Colecta de sangre

Se tomó una muestra de sangre de la vena yugular, la cual se almacenó en tubos tipo *Falcon* de 15 mL que contenían 500 µL EDTA al 2%, el cual actuó como anticoagulante. La punción realizada para la toma de sangre fue efectuada por un zootecnista experimentado con la finalidad de evitar daño al animal.

Las muestras de sangre de cada individuo (aproximadamente 8 mL) fueron guardadas a temperatura ambiente (sin que se exponga a la luz solar directamente). A su llegada al laboratorio, fueron almacenadas a 4°C hasta su procesamiento.

5.2.2 Colecta de folículos pilosos

Se colectaron en total tres mechones del área de la espalda y la grupa, tirando con fuerza con el dedo índice y pulgar. Posteriormente fueron almacenados en bolsas plásticas cerradas herméticamente. La colecta de este tejido se debió a su facilidad para la colecta, almacenamiento, transporte y de servir como contramuestra.

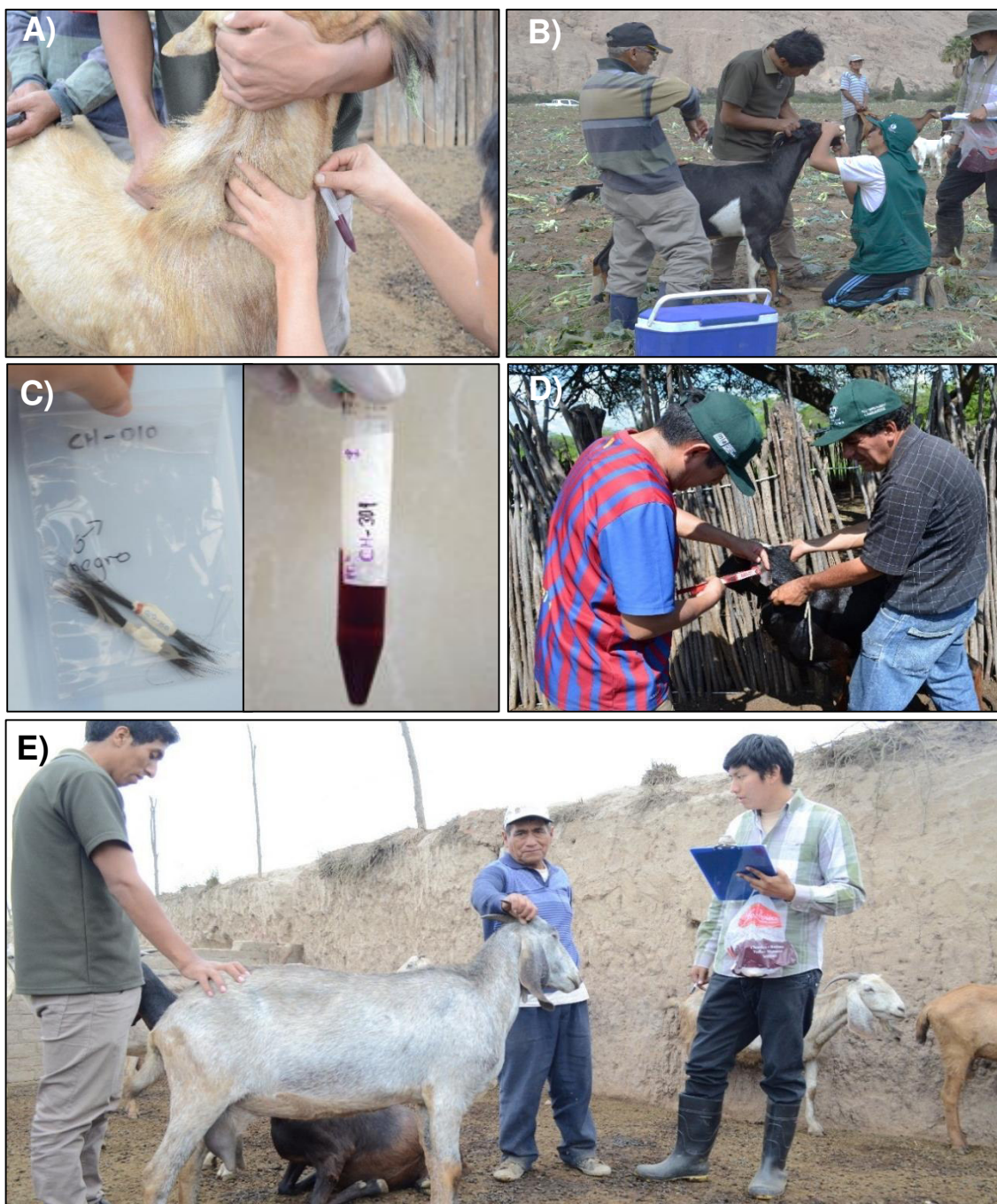


Figura 3: Proceso de recolección de muestras. A) Colecta de sangre, B) Colecta de folículos pilosos, C) Almacenamiento de las muestras, D) Marcaje de los individuos muestreados, E) Toma de datos descriptivos del individuo muestreado y el ganado caprino de procedencia.

5.3 Extracción de ADN genómico

5.3.1 Extracción a partir de sangre

Se retiró la fase de leucocitos de las muestras, vertiéndose en tubos de microcentrífuga de 2 mL. Posteriormente se realizaron sucesivos lavados utilizando 500.0 µL de tampón TE (pH 8.0, Tris-EDTA 20:5) hasta poder conseguir un precipitado de células leucocíticas con la suficiente pureza, cuyo indicador era el color blanquecino del precipitado. El aislamiento de ADN se efectuó utilizando el método de Sambrook y Russell (2006) modificado por el laboratorio de Biología Molecular y Genómica del INIA (LBMG-INIA), el cual se cita a continuación: La capa leucocitaria aislada fue resuspendida en tampón TE (pH 8.0, Tris-EDTA 20:5) con 15 µL de Proteinasa K (20 mg/µL) y 75 µL de SDS 10%, incubando las muestras por 3 h a 56 °C. Posteriormente, se removieron las impurezas adicionado 200 µL de acetato de potasio (Ac-K) 3 M. La precipitación de ADN se realizó con isopropanol y etanol absoluto (EtAb), y se solubilizó en tampón TE_{20:5} (pH 8.0, Tris-EDTA 20:5). Se efectuaron lavados con cloroformo:alcohol isoamílico 24:1; posteriormente se utilizó Ac-K 3 M y NaCl 5 M para precipitar las impurezas de la disolución. Finalmente, se vertió EtAb para precipitar el ADN, y se resuspendió en 50.0 - 300.0 µL de tampón TE (pH 8.0, Tris-EDTA 10:5) según la cantidad de ADN colectado. El ADN extraído se almacenó a -20 °C hasta la evaluación de su calidad y cuantificación (Figura 4). Los pasos detallados de extracción se pueden consultar en el Anexo 4.

5.3.2 Extracción a partir de folículos pilosos

El aislamiento de ADN a partir de folículos pilosos se realizó a través de la aplicación de un protocolo estandarizado por el personal del LBMG-INIA. Para ello se seleccionaron aproximadamente 60 pelos por muestra y a partir del folículo piloso se cortaron 2 cm de pelo utilizando tijeras y pinzas estériles. El pelo cortado se colocó en microtubos de 2.0 mL, los cuales contenían una solución de lisis (SDS 10%, tampón TE proporción 20:5, proteinasa K 20 mg/mL) y 50 µL de DTT (Ditiotreitol). Las muestras se incubaron a 56

°C de 3 a 4 horas, para luego separar las impurezas adicionado 200 µL de Ac-K 3 M. La precipitación de ADN se realizó con isopropanol y EtAb, y se solubilizó en tampón TE_{20:5} (pH 8.0, Tris-EDTA 20:5). Se efectuaron lavados con cloroformo-alcohol isoamílico 24:1; posteriormente se utilizó con acetato de potasio 3 M y NaCl 5 M para precipitar las impurezas presentes en la disolución. Luego, se vertió el EtAb para precipitar el ADN, y se resuspendió en 50.0 -200.0 µL de tampón TE (pH 8.0, Tris-EDTA 10:5) dependiendo de la cantidad del precipitado obtenido. El ADN extraído se almacenó a -20 °C hasta la evaluación de su calidad y cuantificación (Figura 4). Los pasos detallados de extracción se pueden consultar en el Anexo 4.

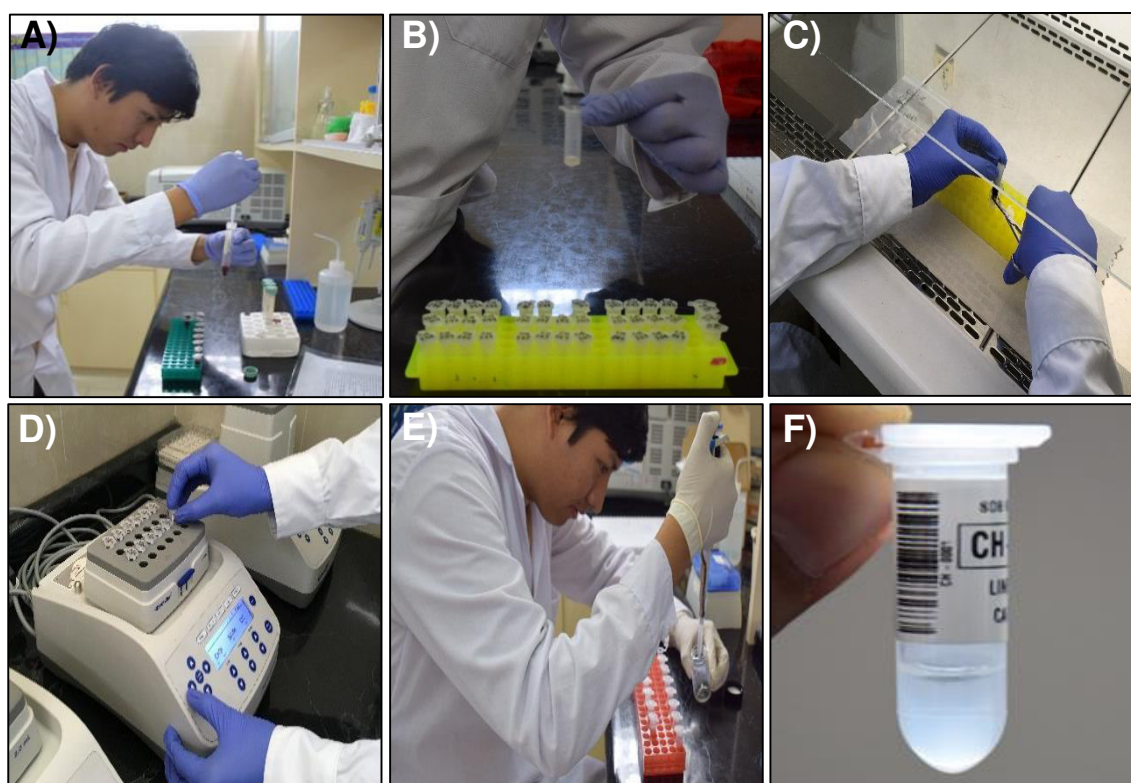


Figura 4: Extracción de ADN genómico. A) Separación de capa leucocitaria a partir de sangre, B) Leucocitos aislados, C) Extracción de folículos pilosos, D) Incubación de muestras para promover la lisis, E) Aislamiento y precipitación de ADN, F) ADN resuspendido en Tampón TE 10:1.

5.4 Evaluación de ADN extraído

La cuantificación del ADN extraído se estimó utilizando un espectrofotómetro marca Epoch Micro-Volume (*BioTek*, USA). La pureza del ADN aislado se midió por medio de la relación de absorbancia a 260.0 nm sobre 280.0 nm (260/280), en la que, una proporción de 1.7 a 1.9 indica una extracción de ADN de óptima pureza (Figura 5).

Además, para corroborar la calidad del ADN, las muestras se analizaron mediante electroforesis horizontal en geles de agarosa al 1% (p/v) con tampón TBE 1X (pH 8.0, Tris-HCl, EDTA, ácido bórico). Posteriormente, se fotografiaron los geles usando un Transiluminador UV ChemiDoc™ (*BioRad*, USA), y los gráficos fueron evaluados a través de la aplicación Quantity One v. 4.6.3 (*BioRad Laboratories Inc.*, USA) (Figura 5). Finalmente, se realizaron diluciones de trabajo de 20 ng/μL (para muestras de sangre) y 30 ng/μL (para muestras de pelo).



Figura 5: Evaluación del ADN genómico. A) Electroforesis, B) Revelado de geles, C) Preparación de muestras para la cuantificación y cálculo del índice de pureza.

5.5 Selección de marcadores microsatélites

Se seleccionaron 21 marcadores microsatélites usados en cabras (Anexo 8), debido principalmente a su estado de frecuencia baja de alelos nulos, equilibrio de ligamiento y alto PIC. Doce de ellos (CSRD247, ILSTS087, ILSTS019, INRA023, INRA063, MAF65, MCM527, OARFCB20, SPS113, SRCRSP23, SRCRSP5 y SRCRSP8) han sido recomendados para estudios de diversidad genética por el grupo de apoyo ISAG-FAO (FAO, 2011).

5.6 Amplificación de microsatélites

La amplificación de los 21 STRs se llevó a cabo en dos grupos (en uno se amplificó 11 microsatélites y en el otro 10) bajo un sistema de PCR multiplex.

Las reacciones de PCR tuvieron un volumen final de 10.0 μL , tomando en cuenta las concentraciones siguientes (Mullis, 1990). MgCl_2 2.5 y 3.0 mM, dNTPs 0.30 mM, 1X tampón de PCR, cebador 0.045 – 0.32 μM , 0.4 U de Taq ADN Pol., y 2.0 μL de ADN 20 ng/ μL (extraídas a partir de sangre) y 30 ng/ μL (extraídas a partir de folículo piloso). La PCR fue desarrollada en un termociclador Mastercycler® Pro Eppendorf (*Eppendorf*, USA), usando la siguiente programación de temperaturas: 01 fase de desnaturalización inicial a 95 °C x 5 minutos, seguida de 25 ciclos con una fase de desnaturalización a 95.0 °C por 45 s, hibridación del cebador a 55 o 57 °C (la temperatura depende de los cebadores) x 1' y una fase extensión a 72 °C por 1 min; y una extensión final a 72 °C x 15' (Figura 6).

La estandarización se realizó a través variaciones en las concentraciones de MgCl_2 , temperatura de hibridación y agrupando a los STRs según al marcaje fluorescente y tamaño del producto. Los protocolos de PCR y programas de amplificación pueden consultarse en los anexos 9 y 10, respectivamente.

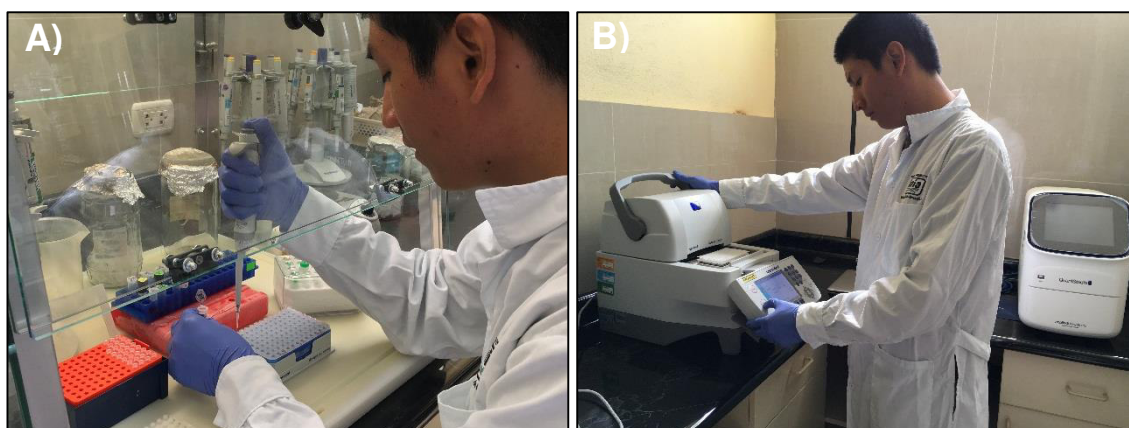


Figura 6: Amplificación de microsatélites por PCR. A) Preparación de las muestras, B) Ejecución del programa de temperaturas en termociclador.

5.7 Genotipificación

La genotipificación se ejecutó mediante electroforesis capilar en el secuenciador *ABI 3130XL* (*Applied Biosystem, USA*). Para llevarlo a cabo, los cebadores *forward* tuvieron que estar fluoromarcados. Los fluoróforos utilizados fueron: 6-FAM (azul), HEX (verde) y NED (amarillo); además de cada grupo de genotipificación, los cuales coinciden con los grupos de amplificación, estuvieron compuestos de tres colores, lo que permitió discriminar alelos de diferentes loci con un mismo tamaño en el análisis de electroferogramas.

Para la detección de las muestras se usó placas de 96 pocillos, donde se mezclaron 0.5 µL de producto amplificado con 10 µL de mix formamida - ROX 500: 0.25 µL del marcador estándar de tamaño, ROX 500 (*Applied Biosystems, USA*) y 9.75 µL de formamida doblemente desionizada (Hi-Di) (Figura 7).

Las muestras en la placa de secuenciación se desnaturalizaron a 96°C por 3 minutos, luego, se colocaron a -20 °C por 3 minutos más, para generar un shock térmico y así evitar la reformación de ADN de doble hebra.

Por capilaridad, los fragmentos fueron expuestos a un láser, el cual provocó la emisión de radiación que fue detectada por una cámara en el analizador genético, transformando la imagen en picos de fluorescencia (a este grupo de picos se les denomina electroferogramas).

Se utilizó el polímero Performance Optimized Polymer 7 (POP-7) (*Applied Biosystems, USA*) como medio de electroforesis, el cual estuvo compuesto por EDTA 1 mM, dimetilacrilamida, 2-pirrolidinona al 05% y urea 8 M, que genera un ambiente desnaturizante para el ADN a 60°C.

Se utilizó el programa GeneMapper v. 4.1 (*Applied Biosystems, USA*) para analizar los electroferogramas (Figura 8) con el objetivo de asignar los tamaños moleculares. Los alelos, visualizados como picos en los electroferogramas, se midieron en URF y para

considerar un alelo como verdadero, este debió superar los 100 URF. Finalmente, para los correspondientes análisis estadísticos, la matriz con los genotipos de todas las muestras fue exportada a un archivo de texto y procesada en una hoja de cálculo.

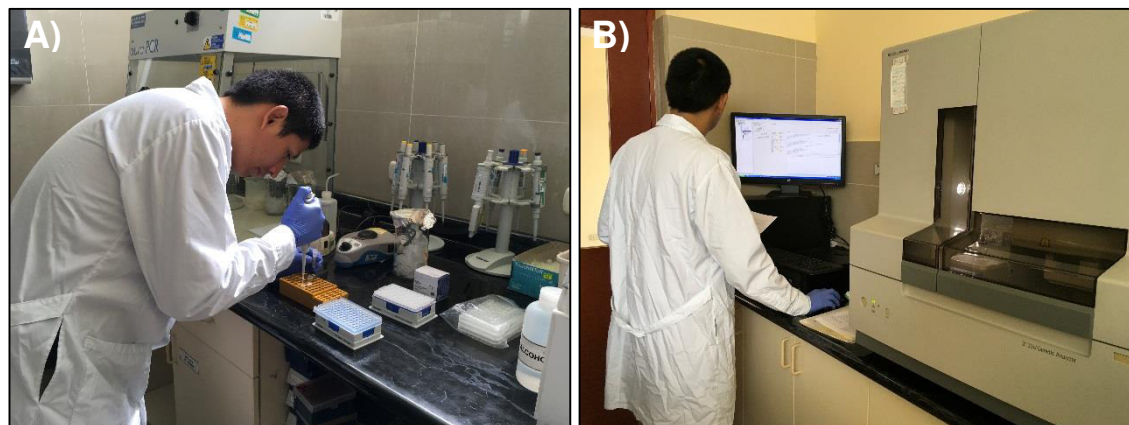


Figura 7: Genotipificación. A) Preparación de placa de secuenciación, B) Electroforesis capilar

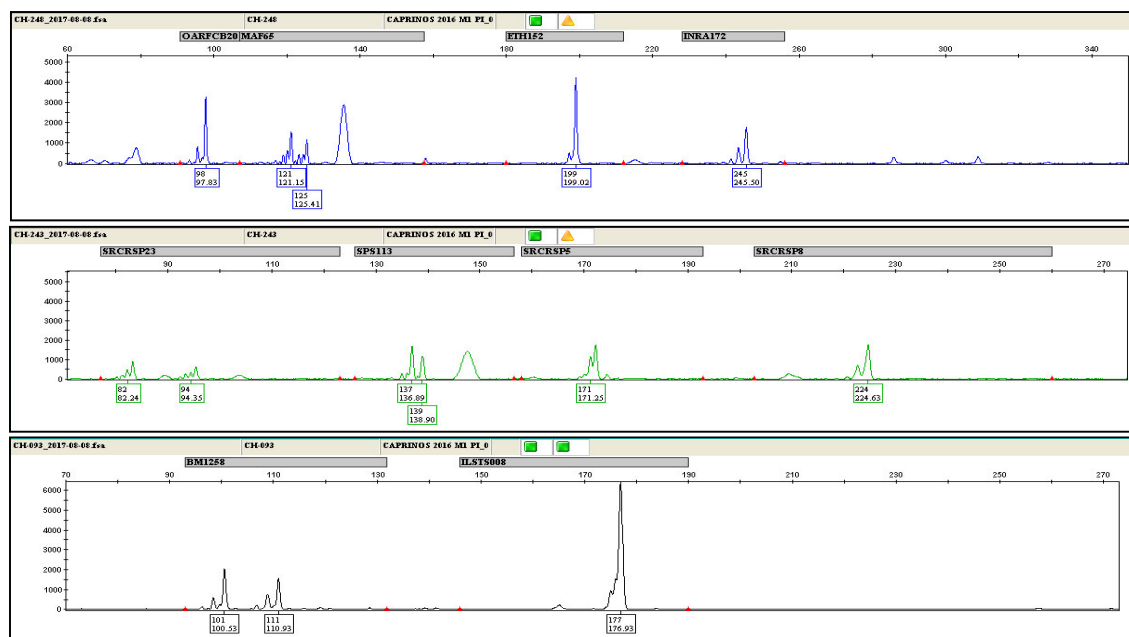


Figura 8: Ejemplo de reporte de electroferogramas obtenidos mediante la aplicación GeneMapper v. 4.10 (*Applied Biosystems*, USA).

5.8 Análisis estadístico

5.8.1 Diversidad genética

Para su análisis, se estimó el número de alelos por locus, las frecuencias alélicas, PIC y las heterocigosidades esperada (H_e) y observada (H_o) con los programas Cervus v.1.0 (Kalinowski *et al.*, 2007) y GenALEX v.6.5 (Peakall y Smouse, 2012).

La frecuencia de alelos nulos fue estimada usando la aplicación Microchecker v.2.2.3 (Van Oosterhout *et al.*, 2004). La estimación de la frecuencia de alelos nulos por locus por el método de Oosterhout, así como su comparación con los métodos de Chakraborty y Brookfield (I y II) se llevó a cabo mediante 1 000 simulaciones de Monte Carlo con nivel de confianza del 99%. Se consideró que un locus presenta alelos nulos cuando la frecuencia de estos es mayor a 0.1 en al menos uno de los 4 métodos.

Las desviaciones del EHW fueron calculadas mediante la aplicación GENEPOP v.4.6 (Rousset, 2008), el cual utiliza la prueba exacta de Fisher para la generación de los p- valores (Wigginton *et al.*, 2005), para cada combinación de locus/población a través de 5000 iteraciones por *batch* (200, de manera que el error estándar sea inferior a 0.1). Para evitar cometer un error tipo I, se aplicó la corrección de Bonferroni y se consideró como Hipótesis nula la presencia de EHW.

5.8.2 Estructura genética

Para estimar el grado de estructuración entre poblaciones y la distribución de la variación genética en las poblaciones muestreadas, se calculó el análisis de varianza molecular, AMOVA (Excoffier *et al.*, 1992), el estadístico de fijación F_{ST} y estadístico R_{ST} mediante la aplicación GenALEX v.6.50 (Peakall y Smouse, 2012), utilizándose 9 999 permutaciones, la cual está recomendada para muestras grandes. Además, el análisis de la estructura genética fue complementada con el programa STRUCTURE v.2.3 y el programa en línea STRUCTURE HARVESTER Web v.0.6.940. Con la aplicación STRUCTURE v.2.3 se determinó el número de MCMC (100 000), burn-in (10 000) y el

método de ancestralidad 2q (Modelo de Mezcla). El intervalo de los agrupamientos fue de K:1 a K:5 y la cantidad de repeticiones fue de 03. Posteriormente, con la aplicación STRUCTURE HARVESTER se consiguió el mejor valor de K.

5.8.3 Endogamia

Se determinó el grado de endogamia para cada población mediante el estadístico F_{IS} , usando la aplicación GenALEX v.6.50 (Peakall y Smouse, 2012), indicando en ambos casos el agrupamiento-K y un número de permutaciones de 9 999.

5.8.4 Distancias genéticas

Como una medida de distancia genética, se determinaron los valores de F_{ST} para cada par de subpoblaciones ($D-F_{ST}$, Weir y Cockerham, 1984) mediante el programa GENEPOP v.4.6, así como la distancia genética ponderada de Reynolds ($D - \text{Reynolds}$, Reynolds *et al.*, 1983), elaborándose 02 árboles de distancias genéticas. El primero con el método UPGMA y el segundo con el método NJ. La robustez de los nodos, se determinó mediante un *bootstrap* basado en 500 reemplazos sobre los loci (Felsenstein, 1985). Todas las estimaciones mencionadas, a excepción del $D-F_{ST}$ de Weir y Cockerham, se realizaron usando el programa POPULATIONS v.1.2.3, descrito por Langella (2002-2010). Además, la utilización del programa TREEVIEW v.1.6.60, descrito por Page (2001), permitió conseguir un gráfico del distanciamiento genético en forma dendrogramas. Se utilizó un individuo de la raza caprina Saanen, como población *outgroup* de referencia.

Finalmente, con el programa GENETIX v. 4.05 (Belkhir *et al.*, 2004) se realizó el análisis factorial de correspondencias (AFC) de las proporciones alélicas por individuo y locus, para poder obtener un gráfico en 03 dimensiones de datos multivariados y corroborar la proximidad o separación genética entre cada una de las subpoblaciones.

6. RESULTADOS

6.1 Calidad de ADN genómico

El índice promedio de pureza de todas las muestras fue 1.93 (SD = 0.09) (Anexo 11). El 58.7% estuvieron en el rango óptimo de pureza, de 1.7 a 1.9. El 33.1% tuvo 2.0, el 7.8 % de 2.1 a 2.4, y solo una muestra tuvo 1.5.

La calidad también se corroboró mediante electroforesis en geles de agarosa al 1%, en donde el ADN estuvo totalmente íntegro, además de una ausencia total o tenue contaminación con ARN o proteínas (Anexo 6 y 7).

6.2 Amplificación de microsatélites y genotipificación

La comprobación de la amplificación en gel de agarosa al 2% mostró el mismo patrón de bandas en todos los individuos (Figura 9) a excepción de uno, para el cual no amplificó el STR SRCRSP5, lo cual se evidenció en los electroferogramas. Cabe resaltar que para esta muestra se repitió hasta 3 veces el proceso de amplificación y genotipificación sin resultados exitosos.

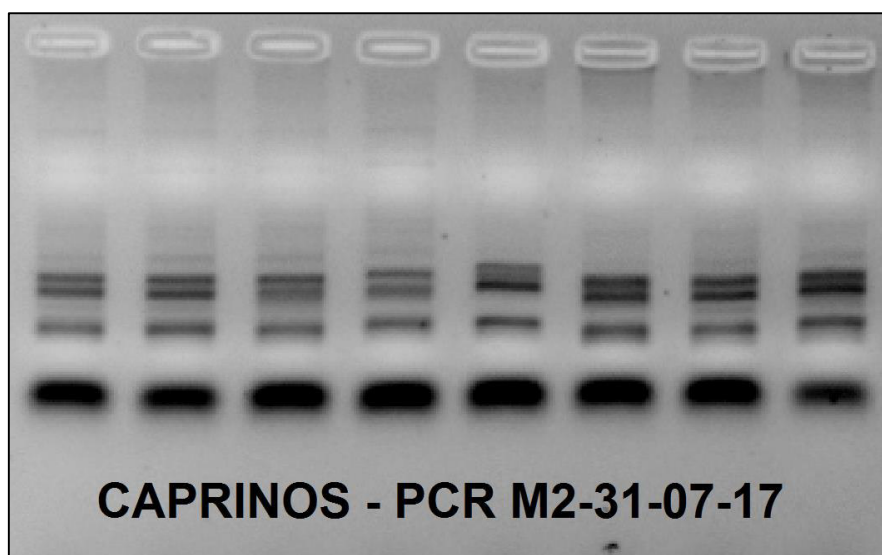


Figura 9: Gel al 2% de producto amplificado para los STRs del protocolo M2. Cada carril pertenece a un individuo diferente.

6.3 Análisis de la diversidad genética

6.3.1 PIC y alelos nulos

En la población total, el valor de PIC promedio fue de 0.66. El STR de mayor índice fue INRA006 (0.87) y el más bajo fue ETH152 (0.14). Los loci altamente informativos fueron 17 (INRA005, BM1258, INRA172, ILSTS019, MCM527, OARCP34, SRCRSP8, ILSTS087, BM1818, SRCRSP23, INRA023, HSC, SRCRSP5, MAF65, SPS113, CSR247 e INRA006), 3 medianamente informativos (OARFCB20, ILSTS008 e INRA063) y 1 poco informativo (ETH152), tanto en la población total como en el análisis individual de las poblaciones (Tabla 4).

Tabla 4: Estimación del PIC por locus en cada población.

Locus	PIC		
	Lima	Piura	Pobl. total
INRA006	0.851	0.873	0.872
CSR247	0.799	0.801	0.808
SPS113	0.806	0.761	0.798
MAF65	0.718	0.817	0.789
SRCRSP5	0.755	0.824	0.786
HSC	0.73	0.84	0.775
INRA023	0.748	0.789	0.767
SRCRSP23	0.729	0.765	0.755
BM1818	0.725	0.767	0.754
ILSTS087	0.673	0.703	0.712
SRCRSP8	0.684	0.747	0.711
OARCP34	0.684	0.727	0.706
MCM527	0.623	0.698	0.685
ILSTS019	0.66	0.713	0.68
INRA172	0.67	0.661	0.672
BM1258	0.588	0.701	0.634
INRA005	0.553	0.509	0.544
INRA063	0.499	0.487	0.497
ILSTS008	0.373	0.351	0.371
OARFCB20	0.346	0.407	0.366
ETH152	0.135	0.146	0.139

No se detectaron alelos nulos en la población total (Tabla 5); sin embargo, en el análisis individual de las poblaciones, Piura presentó alelos nulos en los loci SRCRSP8, CSRD247, ILSTS087 e INRA063 (Tabla 6).

Tabla 5: Determinación de alelos nulos en la población total.

Locus	Presencia	Frecuencia de alelos nulos			
		Método Oosterhout	Método Chakraborty	Método Brookfield 01	Método Brookfield 02
BM1258	0	-0.020	-0.011	-0.009	0.000
BM1818	0	0.017	0.018	0.015	0.015
CSRD247	0	0.023	0.023	0.020	0.020
ETH152	0	0.032	0.046	0.011	0.011
HSC	0	0.009	0.006	0.005	0.005
ILSTS008	0	0.022	0.018	0.010	0.010
ILSTS019	0	-0.020	-0.019	-0.016	0.000
ILSTS087	0	0.025	0.026	0.021	0.021
INRA005	0	0.018	0.016	0.012	0.012
INRA006	0	0.033	0.035	0.031	0.031
INRA023	0	-0.001	0.000	0.000	0.000
INRA063	0	0.008	0.003	0.002	0.002
INRA172	0	-0.019	-0.016	-0.014	0.000
MAF65	0	-0.004	-0.002	-0.002	0.000
MCM527	0	-0.013	-0.011	-0.009	0.000
OARCP34	0	-0.004	-0.004	-0.003	0.000
OARFCB20	0	0.009	0.008	0.004	0.004
SPS113	0	-0.010	-0.010	-0.009	0.000
SRCRSP23	0	-0.013	-0.010	-0.009	0.000
SRCRSP5	0	0.047	0.050	0.042	0.061
SRCRSP8	0	-0.020	-0.019	-0.017	0.000

Tabla 6: Estimación de alelos nulos en las poblaciones de Lima y Piura. Los STRs con alelos nulos se encuentran resaltados en gris.

Locus	Frecuencia de alelos nulos									
	Presencia		Oosterhout		Chakraborty		Brookfield 01		Brookfield 02	
	Lima	Piura	Lima	Piura	Lima	Piura	Lima	Piura	Lima	Piura
BM1258	no	no	-0.020	-0.020	-0.011	-0.005	-0.009	-0.004	0.000	0.000
BM1818	no	no	0.017	-0.035	0.018	-0.029	0.015	-0.026	0.015	0.000
CSRD247	no	si	0.023	0.099	0.023	0.112	0.020	0.091	0.020	0.091
ETH152	no	no	0.032	-0.080	0.046	-0.028	0.011	-0.007	0.011	0.000
HSC	no	no	0.009	0.015	0.006	0.015	0.005	0.014	0.005	0.014
ILSTS008	no	no	0.022	0.044	0.018	0.040	0.010	0.021	0.010	0.021
ILSTS019	no	no	-0.020	0.071	-0.019	0.076	-0.016	0.060	0.000	0.060
ILSTS087	no	si	0.025	0.097	0.026	0.108	0.021	0.083	0.021	0.083
INRA005	no	no	0.018	0.003	0.016	0.011	0.012	0.008	0.012	0.008
INRA006	no	no	0.033	0.043	0.035	0.047	0.031	0.042	0.031	0.042
INRA023	no	no	-0.001	0.053	0.000	0.052	0.000	0.044	0.000	0.044
INRA063	no	si	0.008	0.134	0.003	0.178	0.002	0.108	0.002	0.108
INRA172	no	no	-0.019	0.009	-0.016	0.020	-0.014	0.016	0.000	0.016
MAF65	no	no	-0.004	0.054	-0.002	0.057	-0.002	0.049	0.000	0.049
MCM527	no	no	-0.013	0.037	-0.011	0.044	-0.009	0.035	0.000	0.035
OARCP34	no	no	-0.004	0.034	-0.004	0.036	-0.003	0.030	0.000	0.030
OARFCB20	no	no	0.009	-0.013	0.008	-0.013	0.004	-0.008	0.004	0.000
SPS113	no	no	-0.010	0.032	-0.010	0.039	-0.009	0.033	0.000	0.033
SRCRSP23	no	no	-0.013	-0.010	-0.010	-0.008	-0.009	-0.007	0.000	0.000
SRCRSP5	no	no	0.047	-0.002	0.050	0.001	0.042	0.001	0.061	0.001
SRCRSP8	no	si	-0.020	0.103	-0.019	0.114	-0.017	0.090	0.000	0.090

6.3.2 Número de alelos

Se encontraron 186 alelos distintos en los 21 STRs analizados a partir de 269 individuos de cabra criolla, con un promedio de 8.86 alelos por locus. El locus HSC presentó la mayor diversidad alélica (15 alelos), y la menor diversidad, los loci ETH152 e INRA063 con 4 alelos. De las 02 poblaciones estudiadas, la población de Lima presentó una mayor variabilidad alélica, con un promedio de 8.19, contrario a la población de Piura, con 7.86.

Ambas poblaciones presentaron 151 alelos comunes, mientras que los exclusivos fueron 21 para Lima y 14 para Piura (Tabla 7).

Tabla 7: Número total de alelos (N_{total}) en las poblaciones de Lima y Piura.

Locus	Población		N_{total}
	Lima	Piura	
BM1258	11	8	12
BM1818	9	9	9
CSRD247	7	7	7
ETH152	4	4	4
HSC	13	12	15
ILSTS008	5	4	5
ILSTS019	7	8	8
ILSTS087	10	9	11
INRA005	4	4	5
INRA006	12	13	13
INRA023	10	10	11
INRA063	4	4	4
INRA172	8	6	8
MAF65	11	11	12
MCM527	6	7	8
OARCP34	8	8	8
OARFCB20	6	6	6
SPS113	9	8	10
SRCRSP23	14	12	14
SRCRSP5	9	8	9
SRCRSP8	5	7	7
Total	172	165	186
Promedio	8.19	7.86	8.86
SD	3.01	2.71	3.21
Alelos exclusivos	21	14	-

6.3.3 Frecuencias alélicas y alelos raros

a) BM1258

El alelo de mayor frecuencia en ambas poblaciones fue de 111 pb (0.54 para Lima y 0.42 para Piura). Los alelos de menor frecuencia para Lima fueron de 113 y 123 pb (0.003) y para Piura el de 105 pb (0.006). En la población de Lima se encontró 4 alelos exclusivos de 109, 113, 115 y 129 pb, con frecuencias desde 0.003 a 0.008, mientras que en la población de Piura, solo un alelo exclusivo de 105 pb (0.006) (Figura 10).

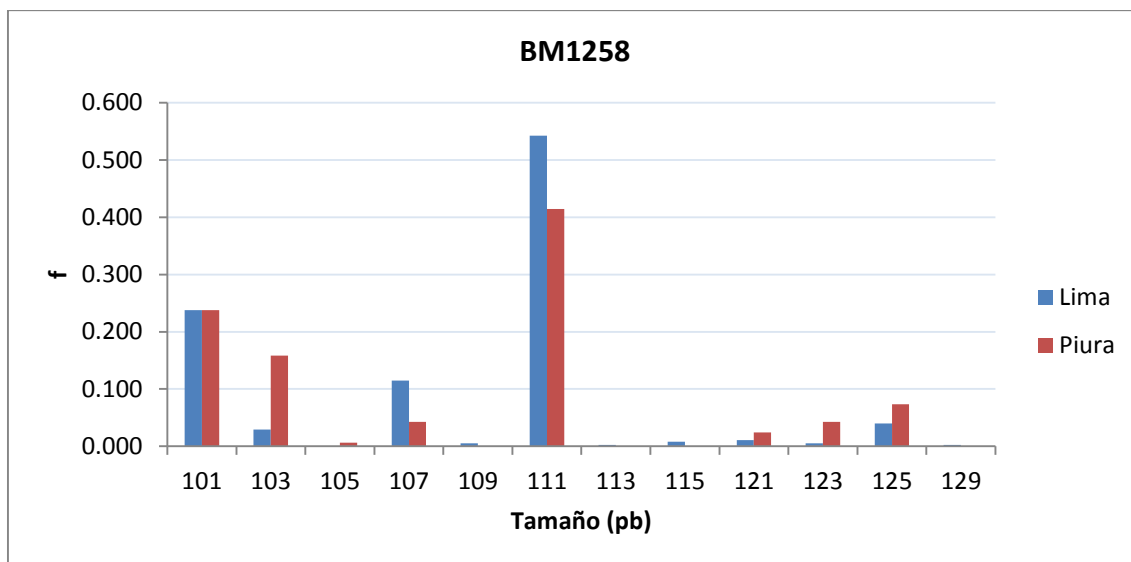


Figura 10: Distribución de frecuencias alélicas para el locus BM1258.

b) BM1818

El alelo más frecuente para la población de Lima fue el de 250 pb (0.37); mientras que para Piura fue el de 254 pb (0.34). Los alelos menos frecuentes para Lima fueron los de 248 y 256 pb (0.008) y para Piura los de 256 y 246 pb (0.006). Ninguna población presentó alelos exclusivos (Figura 11).

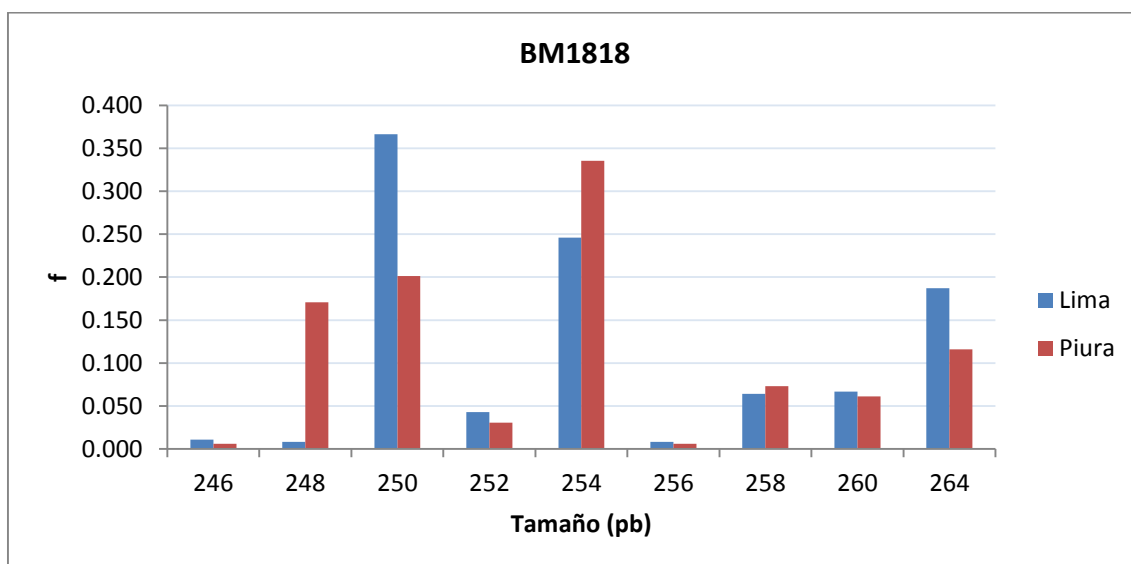


Figura 11: Distribución de frecuencias alélicas para el locus BM1818.

c) CSRD247

El alelo más frecuente para la población de Lima fue el de 218 pb (0.28); mientras que para Piura, el de 238 pb (0.24). El alelo menos frecuente para ambas poblaciones fue el de 240 pb (0.021 y 0.06). Ninguna población presentó alelos exclusivos (Figura 12).

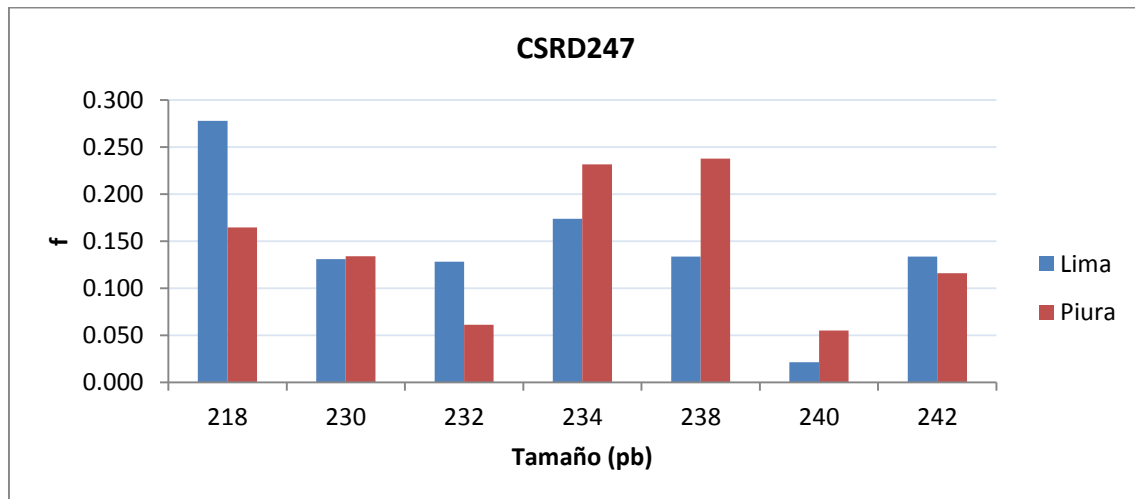


Figura 12: Distribución de frecuencias alélicas para el locus CSRD247.

d) ETH152

El alelo más frecuente en ambas poblaciones fue el de 199 pb (0.93 y 0.92) y el de menor frecuencia fue el de 193 pb (0.003 y 0.018). No se presentaron alelos exclusivos (Figura 13).

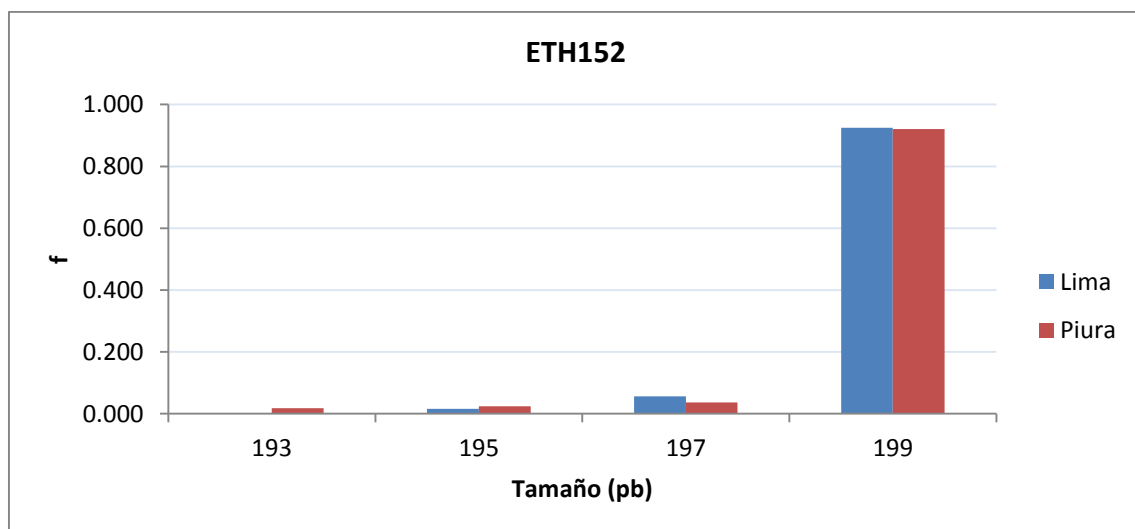


Figura 13: Distribución de frecuencias alélicas para el locus ETH152.

e) HSC

El alelo de mayor frecuencia en ambas poblaciones fue de 270 pb (0.44 y 0.27). El alelo de menor frecuencia para Lima fue el de 268 pb (0.003) y para Piura el de 296 pb (0.013). Lima presenta 3 alelos exclusivos de 268, 272 y 292 pb (0.003 – 0.04); mientras que Piura presenta 2 de 296 y 298 pb (0.012 y 0.061) (Figura 14).

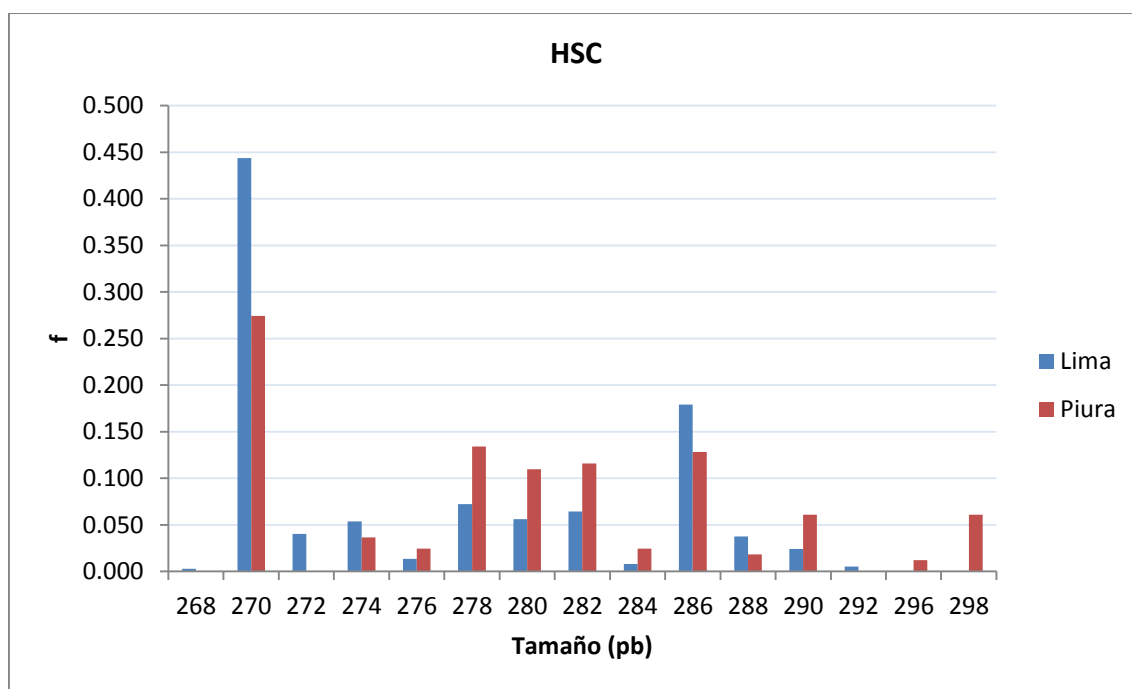


Figura 14: Distribución de frecuencias alélicas para el locus HSC.

f) ILSTS008

El alelo de mayor frecuencia en ambas poblaciones fue de 177 pb (0.75 y 0.77). El alelo de menor frecuencia para Lima fue el de 183 pb (0.003) y para Piura el de 173 pb (0.006). En la población de Lima se encontró un solo alelo exclusivo de 183 pb (0.003), mientras que en Piura estuvieron ausentes (Figura 15).

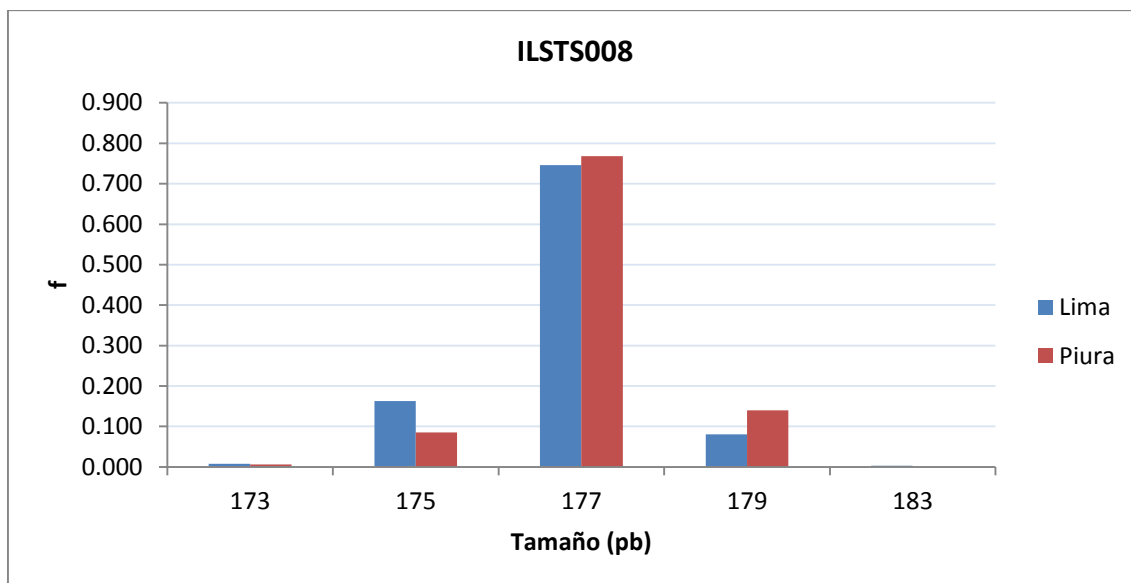


Figura 15: Distribución de frecuencias alélicas para el locus ILSTS008.

g) ILSTS019

El alelo más frecuente en la población de Lima fue el de 147 pb (0.42); mientras que en Piura fueron los de 147 y 149 pb (0.32). El alelo menos frecuente para Lima fue el de 143 pb (0.008) y para Piura los de 145 y 155 pb (0.006). En la población de Piura se halló un solo alelo exclusivo de 155 pb (0.006); mientras que Lima, ninguno (Figura 16).

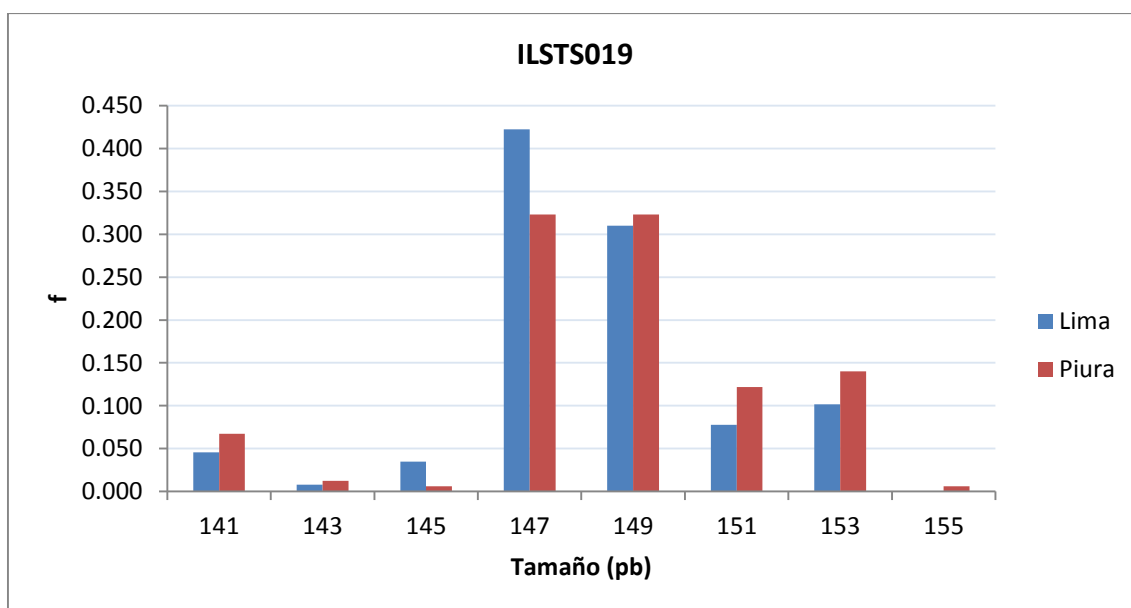


Figura 16: Distribución de frecuencias alélicas para el locus ILSTS019.

h) ILSTS087

El alelo de mayor frecuencia en la población de Lima fue el de 147 pb (0.46); mientras que en la de Piura fue el de 141 pb (0.36). Los alelos menos frecuentes para Lima fueron los de 145 y 155 pb (0.003) y para Piura los de 135 y 145 pb (0.012). En la población de Lima se encontraron dos alelos exclusivos de 151 y 155 pb (0.032 y 0.003); mientras que la de Piura solo uno de 127 pb (0.018) (Figura 17).

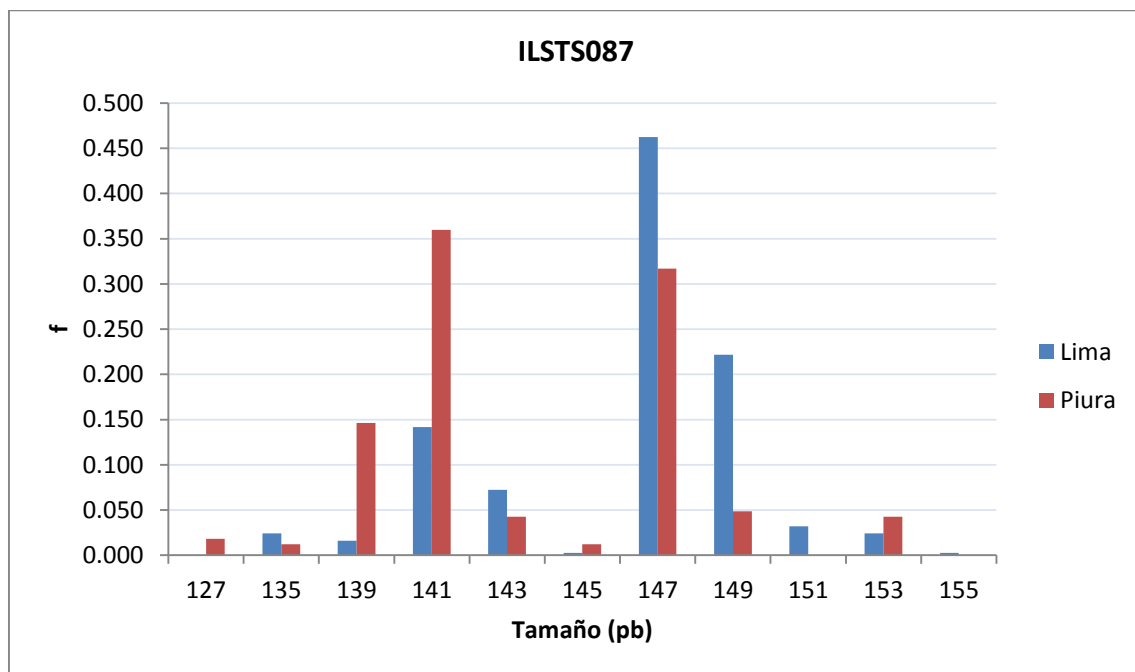


Figura 17: Distribución de frecuencias alélicas para el locus ILSTS087.

i) INRA005

El alelo de mayor frecuencia en ambas poblaciones fue de 136 pb (0.49 y 0.61). El alelo de menor frecuencia para Lima fue el de 134 pb (0.008) y para Piura el de 142 pb (0.03). Las poblaciones de Lima y Piura presentaron un solo alelo exclusivo de 134 pb (0.008) y 142 pb (0.03), respectivamente (Figura 18).

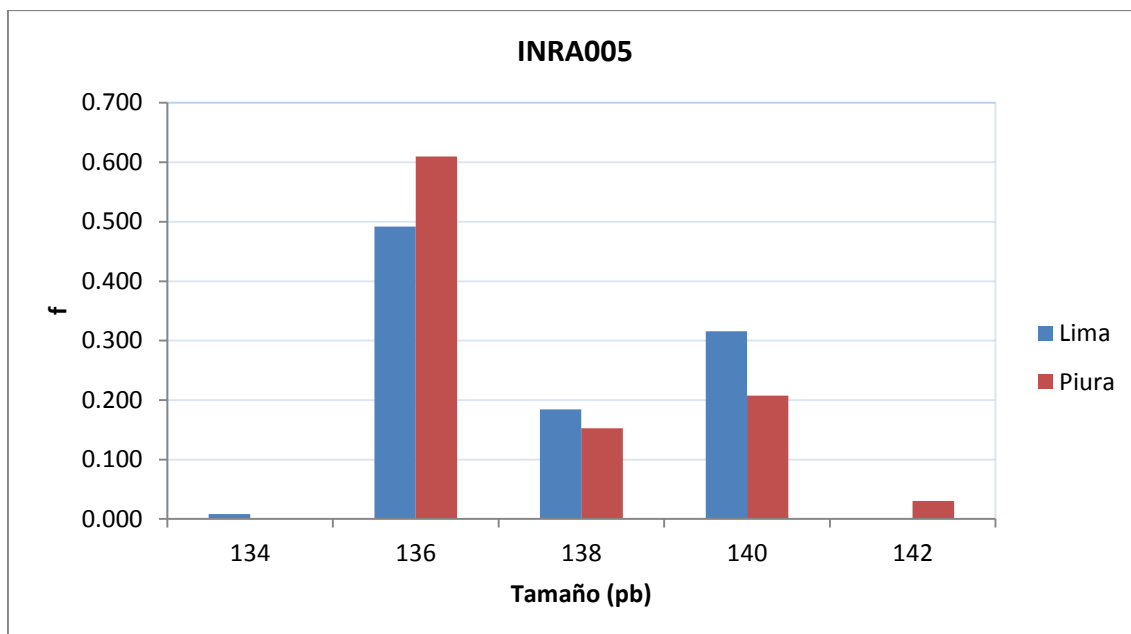


Figura 18: Distribución de frecuencias alélicas para el locus INRA005.

j) INRA006

El alelo de mayor frecuencia para la población de Lima fue el de 105 pb (0.19); mientras que para la de Piura fue de 123 pb (0.21). El alelo de menor frecuencia para Lima fue el de 111 pb (0.003) y para Piura, el de 125 pb (0.006). En la población de Piura se halló un alelo exclusivo de 141 pb (0.012); mientras que Lima, ninguno (Figura 19).

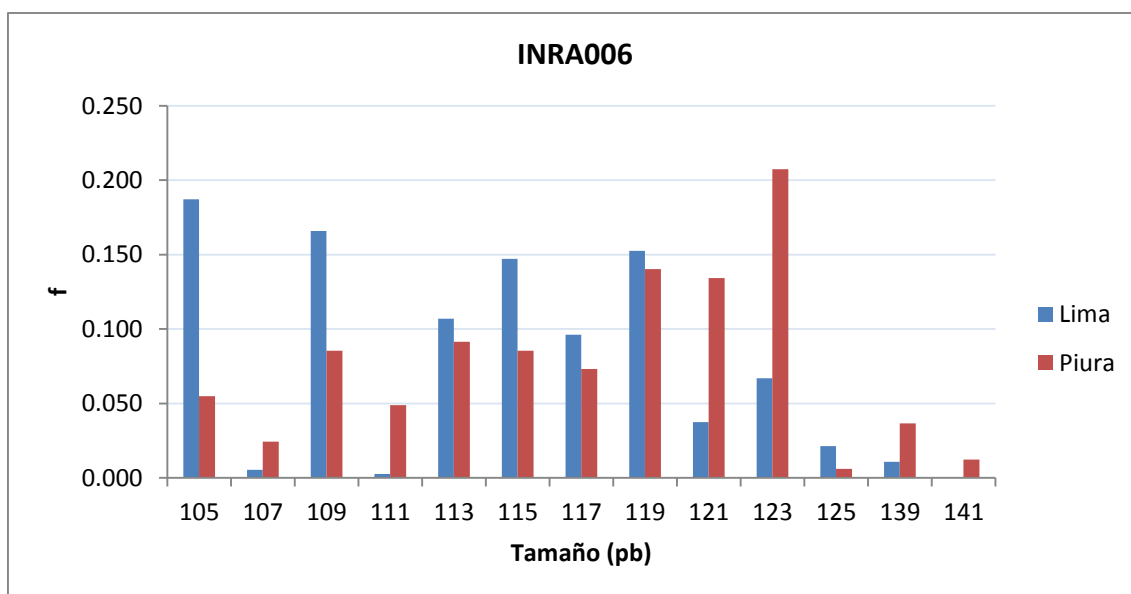


Figura 19: Distribución de frecuencias alélicas para el locus INRA006.

k) INRA023

El alelo de mayor frecuencia en ambas poblaciones fue de 210 pb (0.29 y 0.31). El alelo de menor frecuencia para Lima fue el de 214 pb (0.003) y para Piura fueron los de 194, 206, 214 pb (0.012). En la población de Lima se encontró un alelo exclusivo de 204 pb (0.005); mientras que la de Piura, uno de 206 pb (0.012) (Figura 20).

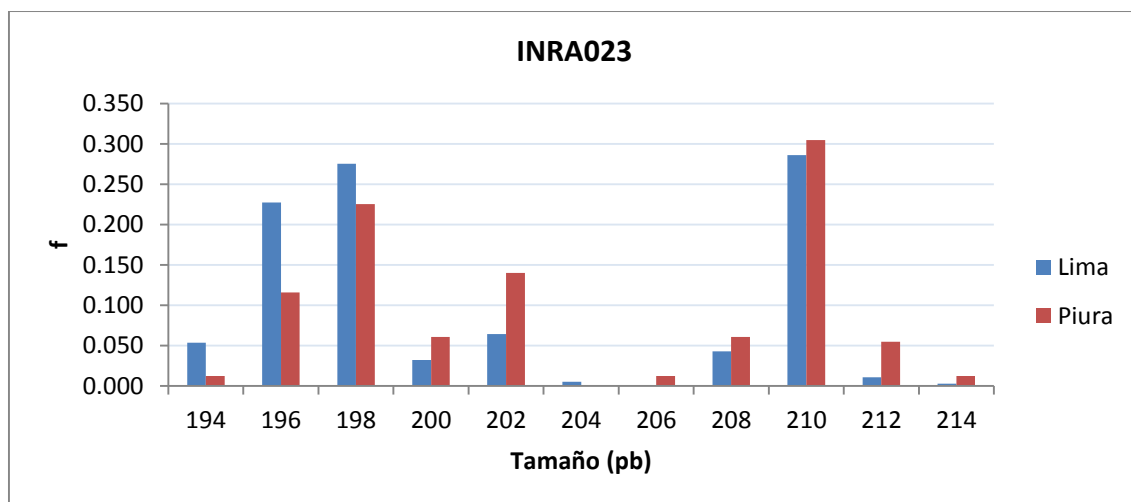


Figura 20: Distribución de frecuencias alélicas para el locus INRA023.

l) INRA063

El alelo de mayor frecuencia en ambas poblaciones fue de 166 pb (0.61 y 0.58) y el de menor frecuencia el de 162 pb (0.051 y 0.018). Ninguna población presentó alelos exclusivos (Figura 21).

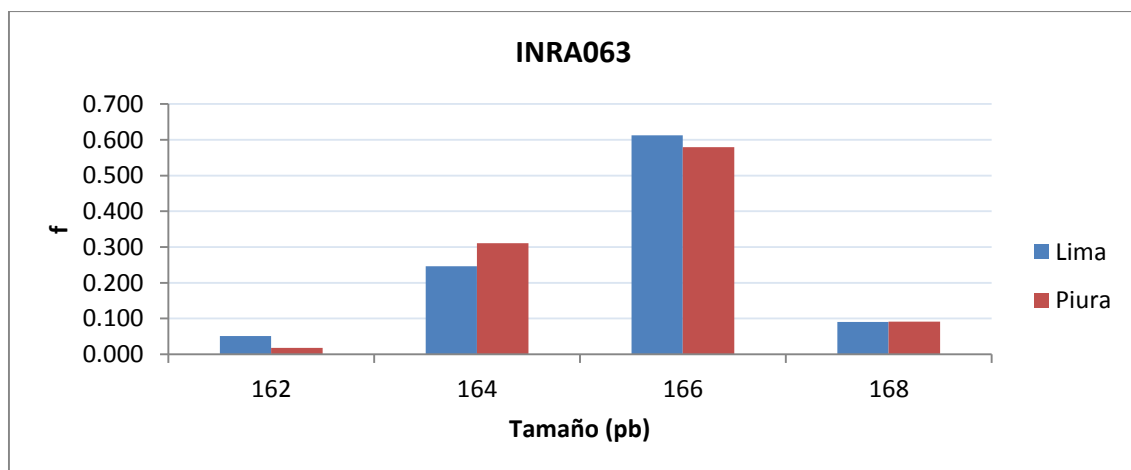


Figura 21: Distribución de frecuencias alélicas para el locus INRA063.

m) INRA172

El alelo de mayor frecuencia en ambas poblaciones fue de 239 pb (0.43 y 0.38). El alelo de menor frecuencia para Lima fue el de 233 pb (0.005) y para Piura el de 247 pb (0.024). En la población de Lima se encontraron 02 alelos exclusivos de 233 y 237 pb (0.005 y 0.032), mientras que en la de Piura, no se presentaron (Figura 22).

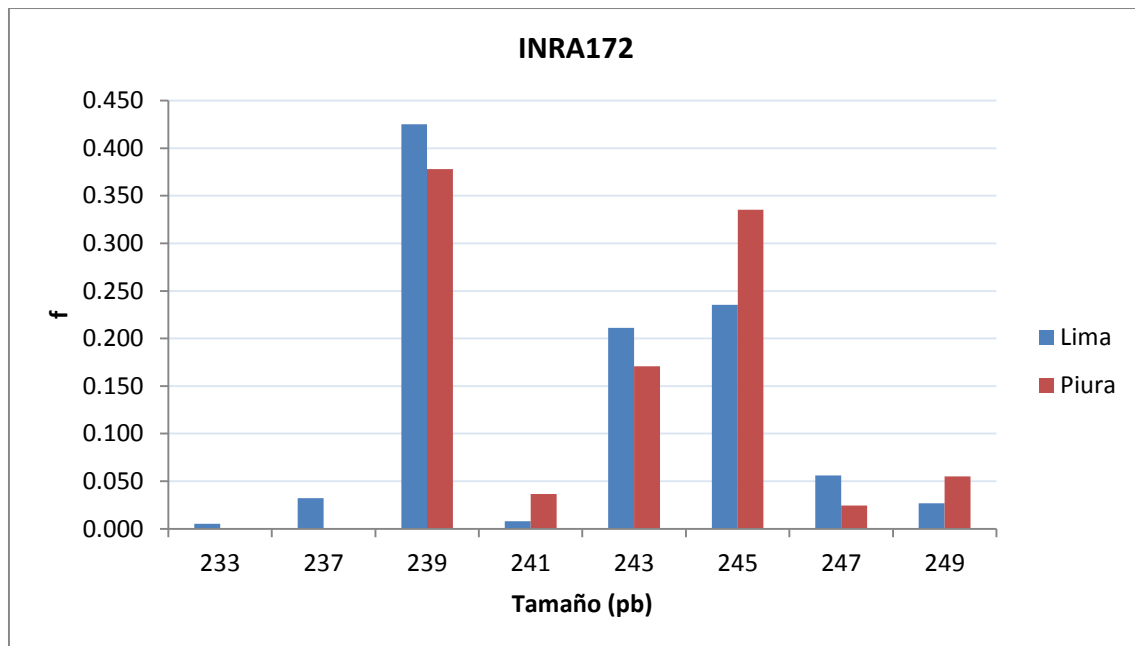


Figura 22: Distribución de frecuencias alélicas para el locus INRA172.

n) MAF65

El alelo de mayor frecuencia en la población de Lima fue el de 125 pb (0.46) y en la de Piura el de 121 pb (0.32). Los alelos menos frecuentes para Lima fueron los de 129 y 137 pb (0.008) y para Piura el de 129 pb (0.006). En la población de Lima se encontró 01 alelo exclusivo de 139 pb (0.075), mientras que en la población de Piura, uno de 119 pb (0.024) (Figura 23).

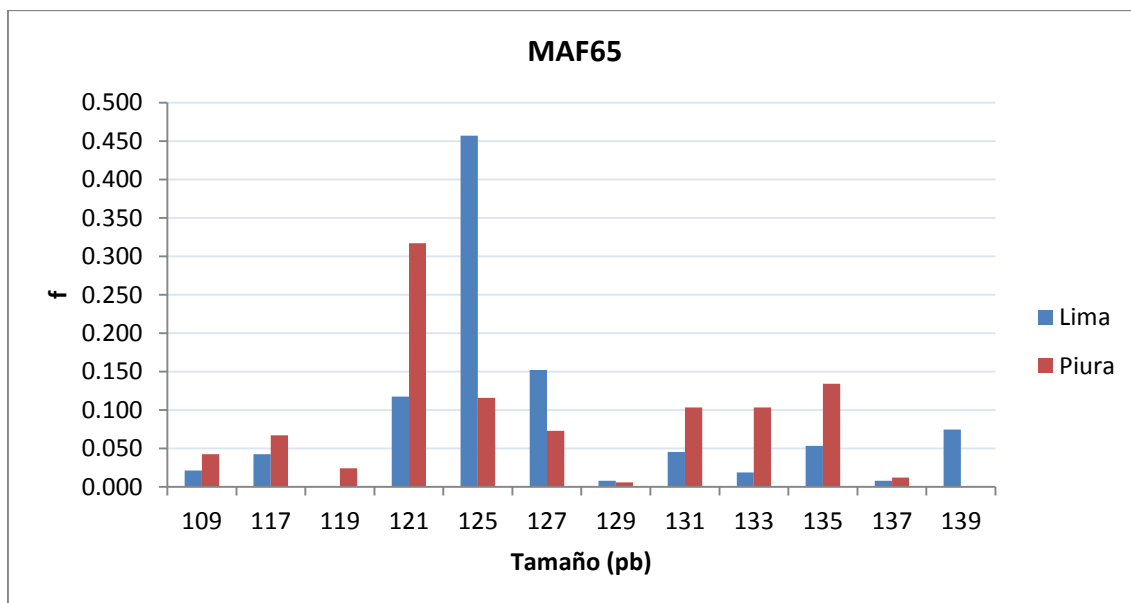


Figura 23: Distribución de frecuencias alélicas para el locus MAF65.

o) MCM527

El alelo de mayor frecuencia en la población de Lima fue el de 171 pb (0.44); mientras que en la de Piura, el de 153 pb (0.43). Los alelos menos frecuentes para Lima fueron los de 163 y 167 pb (0.003) y para Piura fue el de 169 pb (0.018). En la población de Lima se encontró un alelo exclusivo de 163 pb (0.003); mientras que en la de Piura se encontró 02 de 169 y 173 pb (0.018 y 0.024) (Figura 24).

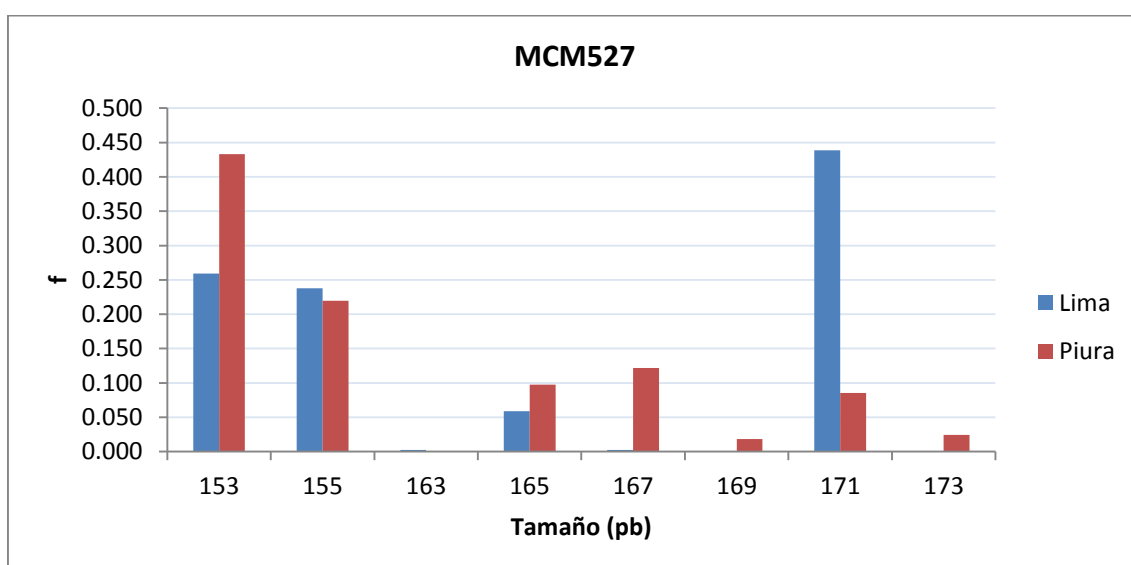


Figura 24: Distribución de frecuencias alélicas para el locus MCM527.

p) OARCP34

El alelo de mayor frecuencia en la población de Lima fue el de 116 pb (0.36); mientras que en la de Piura fue el de 110 pb (0.38). El alelo de menor frecuencia para Lima fue el de 128 pb (0.008) y para Piura el de 124 pb (0.012). Ninguna población presentó alelos exclusivos (Figura 25).

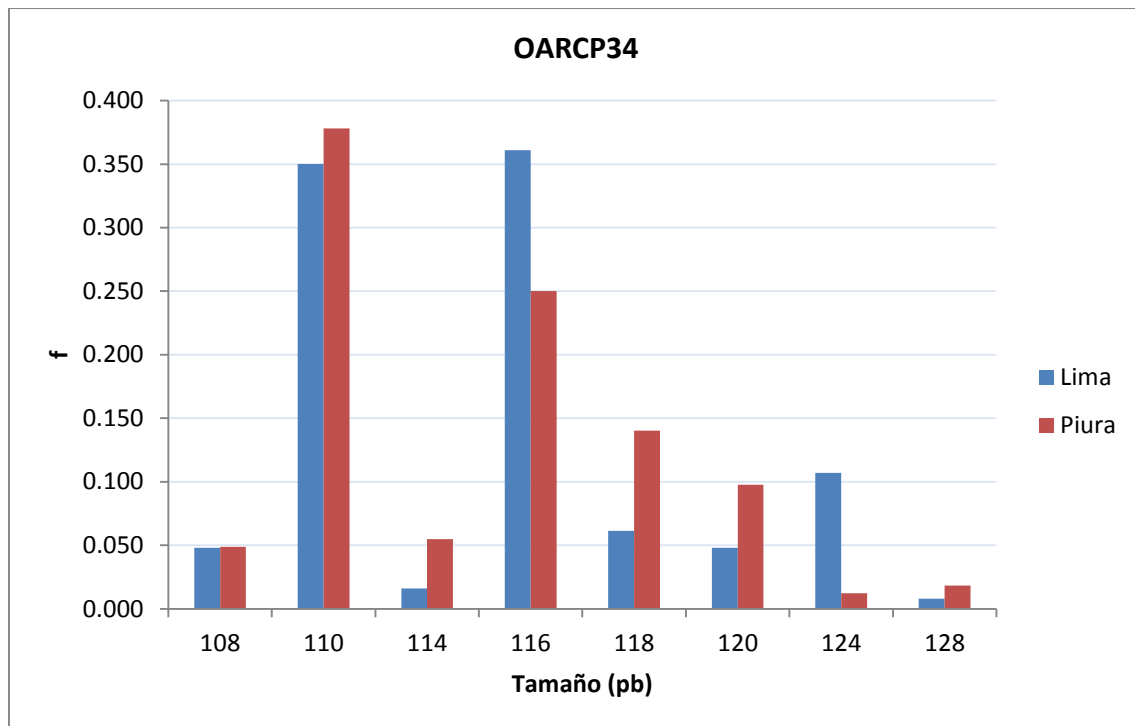


Figura 25: Distribución de frecuencias alélicas para el locus OARCP34.

q) OARFCB20

El alelo de mayor frecuencia en ambas poblaciones fue de 98 pb (0.79 y 0.74). El alelo de menor frecuencia para Lima fue el de 94 pb (0.008) y para Piura el de 104 pb (0.012). No se presentaron alelos exclusivos (Figura 26).

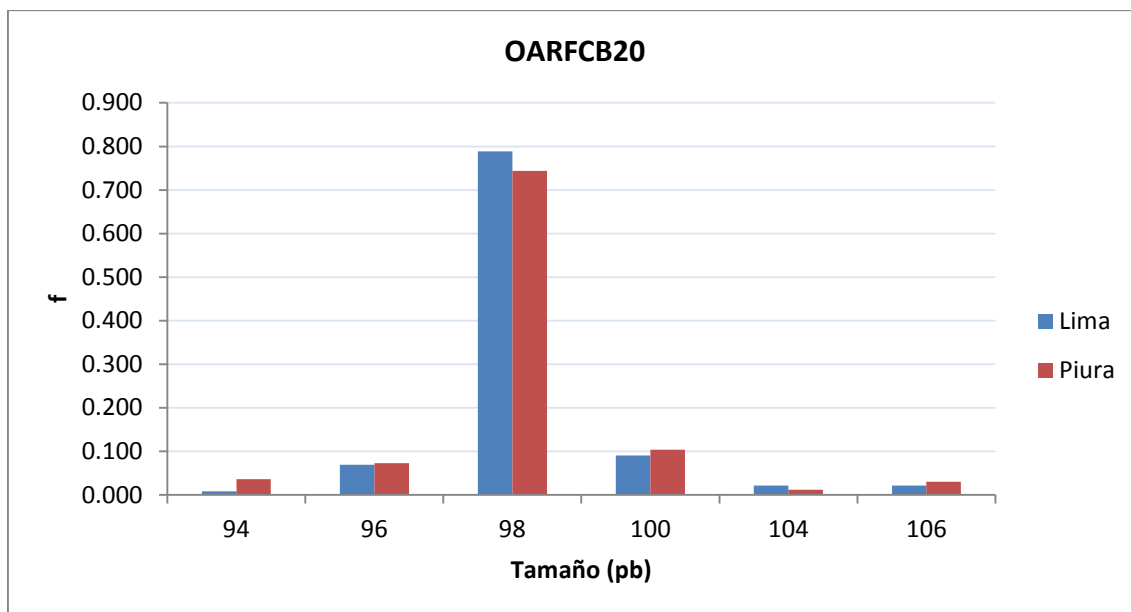


Figura 26: Distribución de frecuencias alélicas para el locus OARFCB20.

r) SPS113

En la población de Lima los alelos de mayor frecuencia fueron los de 137 y 145 pb (0.23) y en la de Piura, el de 137 pb (0.32). El alelo menos frecuente en Lima fue el de 147 pb (0.005) y en Piura el de 131 pb (0.006). En la población de Lima se encontraron 02 alelos exclusivos de 147 y 151 pb (0.005 y 0.008), mientras que en la población de Piura se encontró solo 01 alelo exclusivo de 131 pb (0.006) (Figura 27).

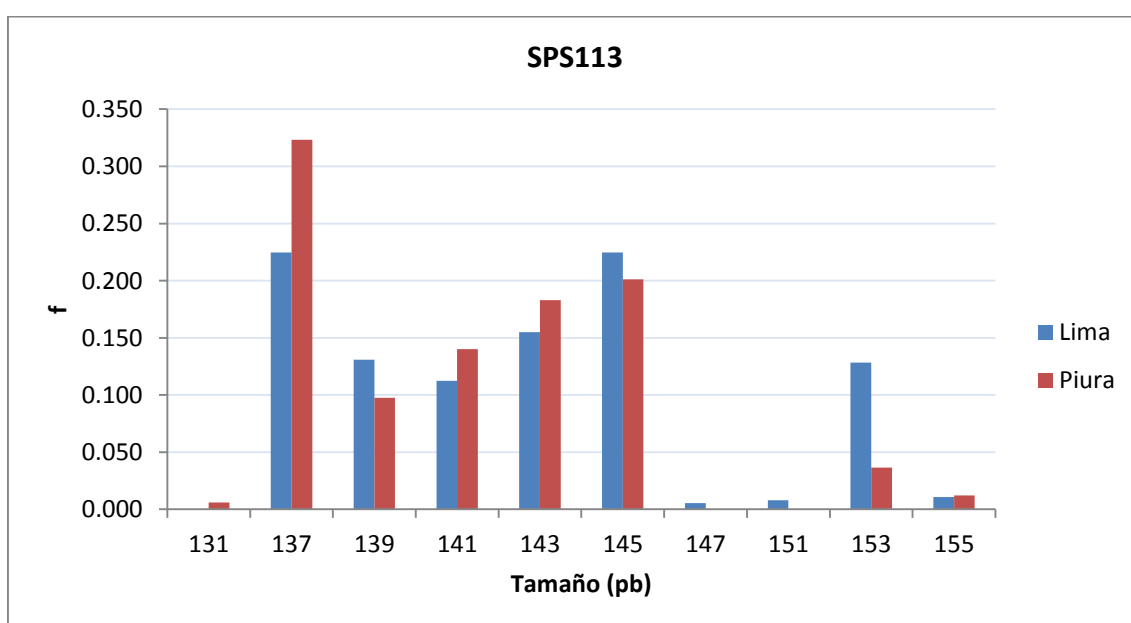


Figura 27: Distribución de frecuencias alélicas para el locus SPS113.

s) SRCRSP23

El alelo de mayor frecuencia en la población de Lima fue el de 82 pb (0.39) y en la de Piura, el de 94 pb (0.32). Los alelos menos frecuentes para Lima fueron los de 78, 80 y 104 pb (0.003) y para Piura los de 98, 100 y 102 pb (0.006). En la población de Lima se encontraron 02 alelos exclusivos de 72 y 78 pb (0.011 y 0.003); mientras que en la de Piura, no se presentaron (Figura 28).

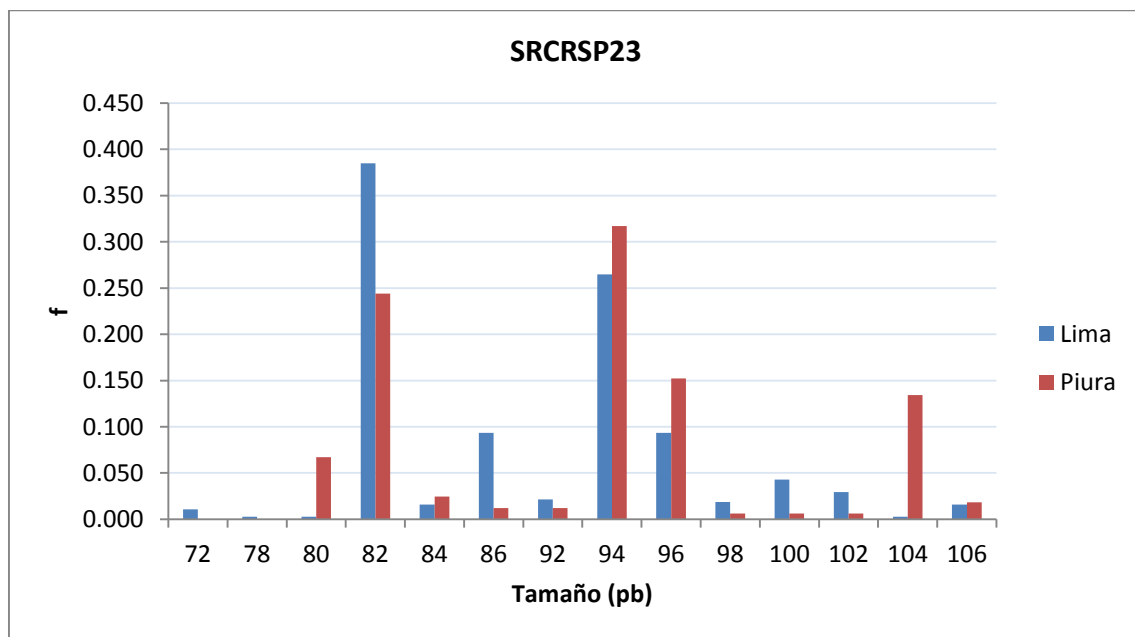


Figura 28: Distribución de frecuencias alélicas para el locus SRCRSP23.

t) SRCRSP5

El alelo de mayor frecuencia en ambas poblaciones fue de 163 pb (0.34 y 0.23). Los alelos de menor frecuencia para Lima fueron los de 173 y 183 pb (0.003); mientras que para Piura, fueron los de 167, 177 y 181 pb (0.067). En la población de Lima se encontró 01 alelo exclusivo de 183 pb (0.003); mientras que en la de Piura, no se presentaron (Figura 29).

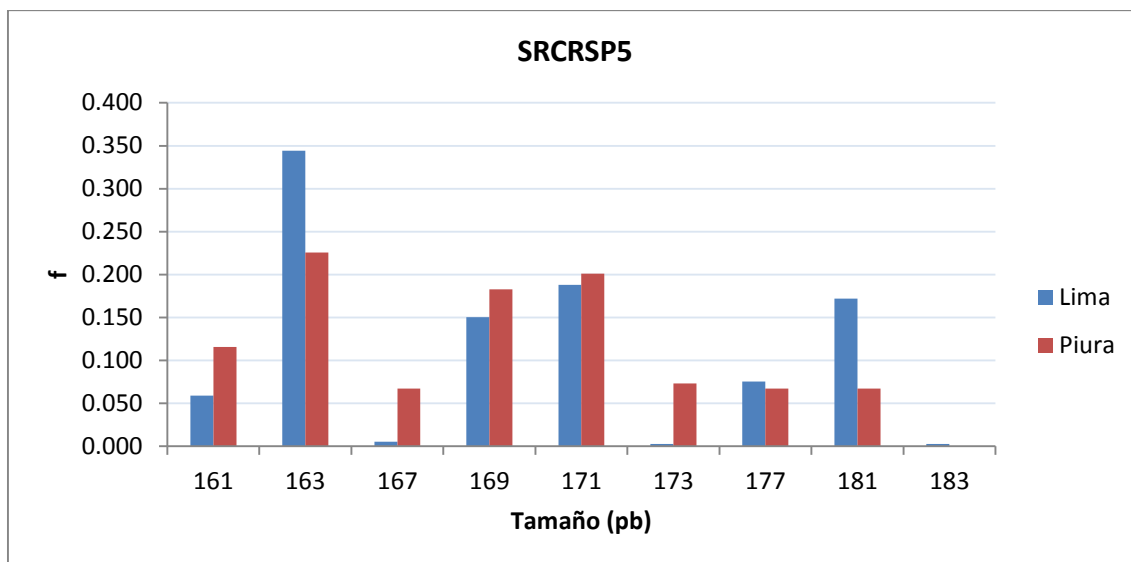


Figura 29: Distribución de frecuencias alélicas para el locus SRCRSP5.

u) SRCRSP8

El alelo de mayor frecuencia en la población de Lima fue el de 240 pb (0.37), mientras que, para Piura, fue el de 222 pb (0.27). El alelo de menor frecuencia para Lima fue el de 220 pb (0.008) y para Piura el de 212 pb (0.006). En la población de Piura se encontraron 02 alelos exclusivos de 212 y 226 pb (0.006 y 0.049); mientras que en la de Lima, no se presentaron (Figura 30).

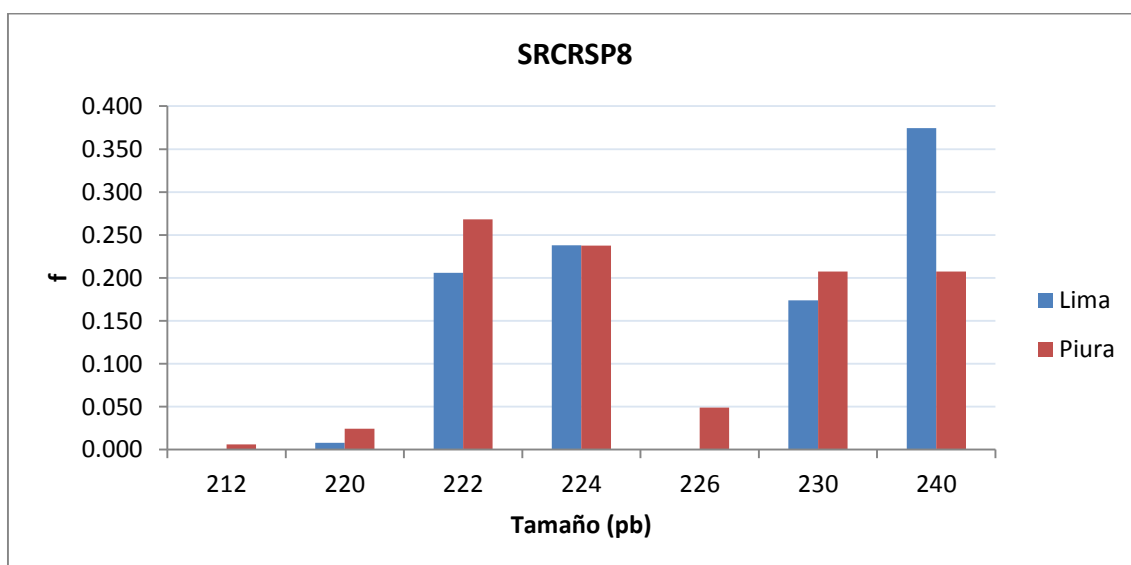


Figura 30: Distribución de frecuencias alélicas para el locus SRCRSP8.

A su vez, se presentaron alelos raros ($0.01 \leq f < 0.05$) y muy raros ($f < 0.01$) en ambas poblaciones (Tabla 8). En Lima, 16 de 38 AMR fueron exclusivos, mientras que en Piura 4 de 13 lo fueron.

Tabla 8: Número de alelos raros (AR) y muy raros (AMR) en las poblaciones de Lima y Piura (f = frecuencia, N_{total} = número de alelos totales).

	Lima	Piura	Pobl. Total
	($N_{\text{total}} = 172$)	($N_{\text{total}} = 165$)	($N_{\text{total}} = 186$)
AR ($0.01 \leq f < 0.05$)	42	49	51
AMR ($f < 0.01$)	38	13	38
AR en común	16	-	-
AMR en común	3	-	-

6.3.4 Heterocigosidad

En la población total la H_o varió desde 0.14 (ETH152) a 0.81 (INRA006 y SPS113), mientras que la H_e varió desde 0.14 (ETH152) a 0.89 (INRA006), siendo la H_o y H_e promedio de 0.66 y 0.69, respectivamente. Además, todos los loci, excepto BM1258, tuvieron una mayor H_e que H_o .

En el análisis por departamento, la H_o varió de 0.13 (ETH152) a 0.85 (SPS113) para Lima y de 0.16 (ETH152) a 0.84 (SRCRSP5) para Piura, siendo la H_o promedio de 0.66 (Lima) y 0.65 (Piura). La H_e en la población de Lima osciló de 0.14 a 0.87 y la de Piura de 0.15 a 0.89, siendo para ambos ETH152 e INRA006 los loci con menor y mayor H_e , respectivamente. Así mismo, la población de Lima presentó una H_e promedio de 0.67 y la de Piura de 0.71. En la población de Lima, 7 loci tienen una H_o ligeramente mayor a H_e , mientras que para Piura son solo 4 loci (Tabla 9).

Si retiramos los loci con alelos nulos encontrados en Piura, la H_o promedio en esta población aumenta en 0.01, mientras que la H_e promedio disminuye en 0.01 ($p > 0.05$).

Tabla 9: Estimación de la H_o y H_e para las poblaciones de Lima y Piura.

Locus	LIMA		PIURA		TOTAL	
	H _o	H _e	H _o	H _e	H _o	H _e
BM1258	0.65	0.64	0.74	0.74	0.68	0.67
BM1818	0.73	0.76	0.84	0.80	0.77	0.79
CSRD247	0.79	0.83	0.66	0.83	0.75	0.83
ETH152	0.13	0.14	0.16	0.15	0.14	0.14
HSC	0.74	0.75	0.83	0.86	0.77	0.80
ILSTS008	0.40	0.41	0.35	0.39	0.38	0.41
ILSTS019	0.73	0.71	0.65	0.76	0.71	0.72
ILSTS087	0.67	0.71	0.60	0.75	0.65	0.75
INRA005	0.60	0.63	0.55	0.56	0.59	0.61
INRA006	0.81	0.87	0.81	0.89	0.81	0.89
INRA023	0.78	0.78	0.73	0.82	0.77	0.80
INRA063	0.55	0.56	0.39	0.56	0.50	0.56
INRA172	0.74	0.72	0.68	0.72	0.72	0.72
MAF65	0.74	0.74	0.74	0.84	0.74	0.81
MCM527	0.70	0.68	0.67	0.74	0.69	0.73
OARCP34	0.73	0.73	0.71	0.76	0.73	0.75
OARFCB20	0.36	0.37	0.44	0.43	0.38	0.39
SPS113	0.85	0.83	0.73	0.80	0.81	0.82
SRCRSP23	0.78	0.76	0.81	0.80	0.78	0.78
SRCRSP5	0.71	0.79	0.84	0.85	0.75	0.81
SRCRSP8	0.76	0.73	0.62	0.79	0.72	0.76
PROMEDIO	0.66	0.67	0.65	0.71	0.66	0.69
SD	0.17	0.18	0.18	0.19	0.17	0.18
p>0.05		p>0.05		p>0.05		

6.3.5 Equilibrio Hardy-Weinberg (EHW)

En el total de la población, los loci CSRD247 e INRA006 no mostraron EHW. Por otro lado, en el análisis por población, solo los loci BM1818 y CSRD247 no mostraron EHW para Lima y Piura, respectivamente. Todos los loci que no se encontraron en EHW presentaron déficit de heterocigotos (Tabla 10).

Tabla 10: Evaluación del EHW para cada locus en las poblaciones de Lima y Piura. En NoS = no significativo, 1 = deficiencia de heterocigotos y 2 = exceso de heterocigotos. Corrección de Bonferroni: $\alpha = 0.0024$.

LOCUS	LIMA	PIURA	TOTAL
BM1258	NoS	NoS	NoS
BM1818	1	NoS	NoS
CSR247	NoS	1	1
ETH152	NoS	NoS	NoS
HSC	NoS	NoS	NoS
ILSTS008	NoS	NoS	NoS
ILSTS019	NoS	NoS	NoS
ILSTS087	NoS	NoS	NoS
INRA005	NoS	NoS	NoS
INRA006	NoS	NoS	NoS
INRA023	NoS	NoS	NoS
INRA063	NoS	NoS	NoS
INRA172	NoS	NoS	NoS
MAF65	NoS	NoS	NoS
MCM527	NoS	NoS	NoS
OARCP34	NoS	NoS	NoS
OARFCB20	NoS	NoS	NoS
SPS113	NoS	NoS	NoS
SRCRSP23	NoS	NoS	NoS
SRCRSP5	NoS	NoS	NoS
SRCRSP8	NoS	NoS	NoS

6.4 Análisis de la estructura genética

6.4.1 AMOVA- F_{ST} , estadísticos F y R_{ST}

El test de AMOVA- F_{ST} reveló una muy baja variación genética interpoblacional (3%) y una alta variación genética dentro de las poblaciones (97%). Así mismo, mediante la AMOVA se obtuvo los estadísticos F_{ST} (0.030) y R_{ST} (0.045), los cuales indican una baja estructura genética (Tabla 11).

En las subpoblaciones de Lima y Piura, la prueba de AMOVA- F_{ST} reveló una baja variación genética interpoblacional (1% y 2% para las subpoblaciones de Lima y Piura, respectivamente). Así mismo, se observó una baja estructura genética según los

estadísticos F_{ST} y R_{ST} , siendo ligeramente mayor entre las subpoblaciones de Piura (Tabla 12).

Tabla 11: AMOVA- F_{ST} y estadísticos F_{ST} y R_{ST} entre las poblaciones de Lima y Piura.

GL = Grados de libertad, SC = Suma de cuadrados, VE = Varianza estimada, %V = Porcentaje de varianza.

FUENTE DE VARIANZA	GL	SC	VE	% V	F_{ST}	R_{ST}
Entre las poblaciones de Lima y Piura	1	58.076	0.223	3%	0.03	0.045
Dentro de las poblaciones de Lima y Piura	536	3842.094	7.168	97%		

Tabla 12: AMOVA- F_{ST} y estadísticos F_{ST} y R_{ST} entre las subpoblaciones de Lima y Piura.

Grados de libertad, SC = Suma de cuadrados, VE = Varianza estimada, %V = Porcentaje de varianza.

POBLACIÓN	FUENTE DE VARIANZA	GL	SC	VE	% V	F_{ST}	R_{ST}
LIMA	Entre las subpoblaciones	2	23.558	0.042	1%	0.006	0.005
	Dentro de las subpoblaciones	371	2611.036	7.038	99%		
PIURA	Entre las subpoblaciones	1	14.710	0.168	2%	0.020	0.029
	Dentro de las subpoblaciones	162	1192.790	7.363	98%		

El análisis de endogamia (F_{IS}) mostró un valor bajo de 0.036 para el promedio de las poblaciones. En el análisis individual de las poblaciones, Lima presentó un valor de 0.010 y Piura un valor ligeramente mayor de 0.081. Además, el F_{IT} de ambas poblaciones presentó un valor de 0.065.

6.4.2 Agrupamiento de individuos por probabilidades bayesianas

El número de poblaciones genéticas osciló de 01 a 05 utilizando el programa STRUCTURE. Cuando K fue 2, las poblaciones genéticas estuvieron conformadas por Lima y Piura, sin embargo, ambas poblaciones presentaron individuos mezclados. Cuando K fue 03 o 04 no se observaron agrupamientos lógicos (Figura 31).

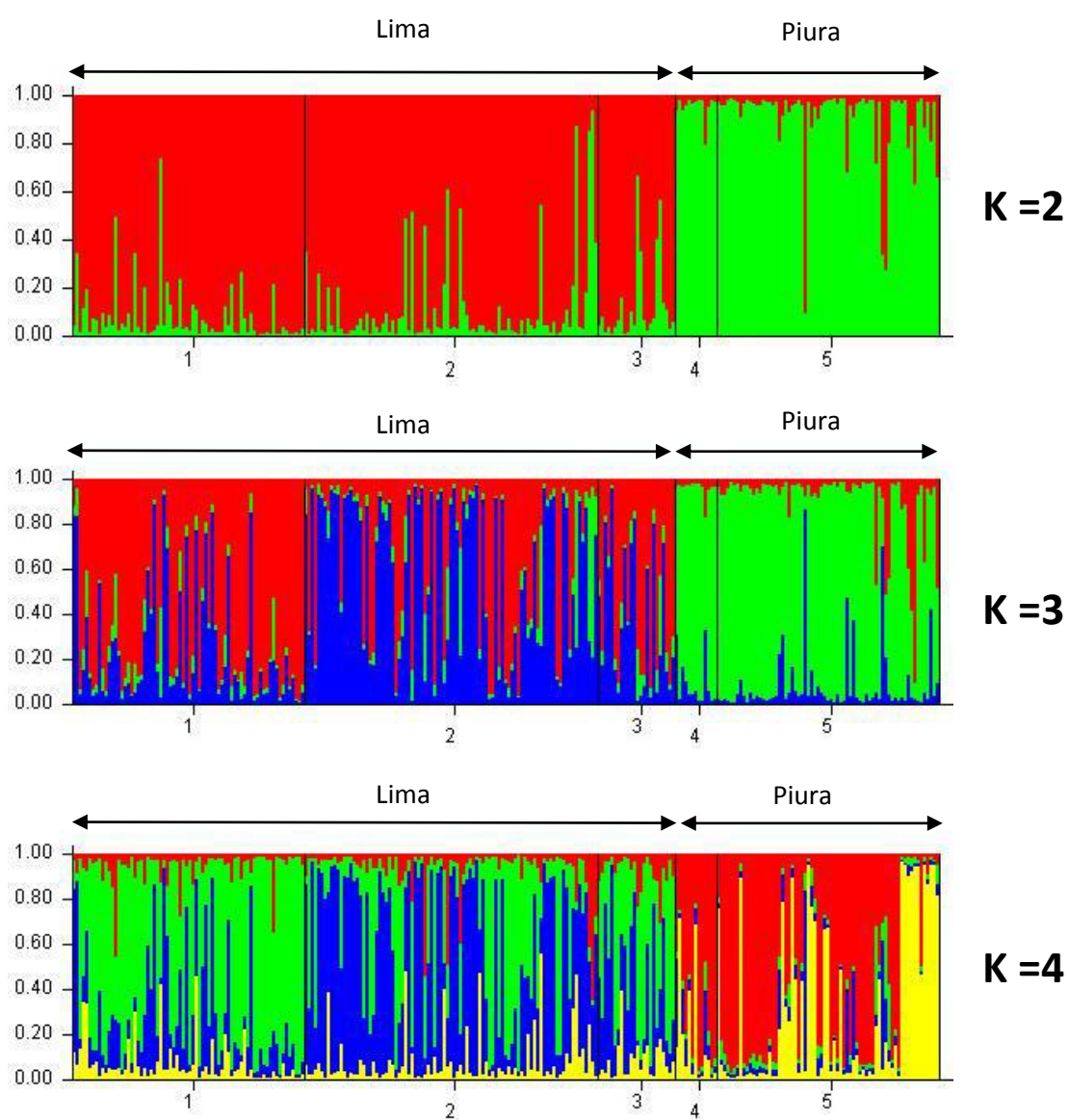


Figura 31: Análisis de estructuración genética considerando dos, tres y cuatro poblaciones. Los números indican las subpoblaciones: 1 (Huaral), 2 (Huaura), 3(Canta), 4(Piura) y 5 (Morropón).

Mediante el programa STRUCTURE HARVESTER, se estimó que la cantidad de poblaciones genéticas era de 02 (Tabla 13).

Tabla 13: Datos generados por STRUCTURE HARVESTER destacando el mejor valor de agrupamiento.

"K- agrupaciones "	"Repet."	"Mean LnP-K"	"Stdev LnP-K"	"Ln'(K) "	" Ln''(K) "	"Delta de K"
01	3	- 17253.6	0.4	-	-	-
02	3	- 16884.8	3.7	368.8	244.2	65.9
03	3	- 16760.2	2.7	124.6	72.5	27.3
04	3	- 16708.1	33.7	52.1	-	-

6.4.3 Distancias genéticas

Bajo ambos métodos (D_{FST} y $D_{REYNOLDS}$), se observaron distancias genéticas bajas entre las subpoblaciones de Lima (Huaral, Huaura y Canta); del mismo modo entre las subpoblaciones de Piura (Morropón y Piura). Así mismo, bajo ambos métodos, las distancias genéticas entre la subpoblación de Piura y las de Huaura, Huaral y Canta fueron moderadas, mientras que entre la subpoblación de Morropón y las de Huaura, Huaral y Canta fueron bajas.

Por otro lado, bajo ambos métodos, las distancias genéticas fueron altas entre las subpoblaciones de Lima con el *outgroup*, mientras que entre las subpoblaciones de Piura y el *outgroup* fueron moderadas (Tabla 14).

En el dendrograma generado mediante el método UPGMA (Figura 32) se puede observar dos *clusters* relacionados: uno de ellos con una mayor relación genética, el cual está conformado por las subpoblaciones de Huaral, Huaura y Canta, aunque su *bootstrap* sea de 51%. El otro *cluster* está formado por las subpoblaciones de Piura y Morropón, con un valor de *bootstrap* del 93% (alta robustez).

En el dendrograma elaborado por el método Neighbor - Joining (Figura 33), se corrobora la gran proximidad genética entre las subpoblaciones de Lima con un valor de *bootstrap* del 56%, una menor entre las subpoblaciones de Piura y Morropón (*bootstrap* del 53%) y una aún menor entre ambos clusters (departamentos de Lima y Piura), la cual sigue siendo baja.

EL AFC muestra que las subpoblaciones de Huaral, Huaura y Canta están estrechamente relacionadas. Estas a su vez tienen una menor relación con las subpoblaciones de Morropón y Piura, siendo menor con la subpoblación de Piura, tal como se observó en las medidas de F_{ST} de Weir y Cockerham y distancias de Reynolds (Figura 34).

Tabla 14: Cuadro de doble entrada de distancias F_{ST} (encima de la diagonal) y distancias genéticas ponderadas de Reynolds (debajo de la diagonal), entre las subpoblaciones de caprinos de Lima, Piura y la población del grupo externo (Saanen). En colores, el grado de estructuración genética según Wright (1978): rosa = baja, naranja = media y verde = alta.

Poblaciones	Lima			Piura		
Subpoblaciones	Huaral	Huaura	Canta	Piura	Morropón	Outgroup
Huaral	-	0.0066	0.0048	0.0536	0.0359	0.1858
Huaura	0.0066	-	0.0047	0.0495	0.0288	0.1772
Canta	0.0051	0.0047	-	0.0544	0.0250	0.1686
Piura	0.0557	0.0509	0.0569	-	0.0205	0.1314
Morropón	0.0370	0.0295	0.0263	0.0225	-	0.1093
Outgroup	0.2106	0.1946	0.1894	0.1567	0.1354	-

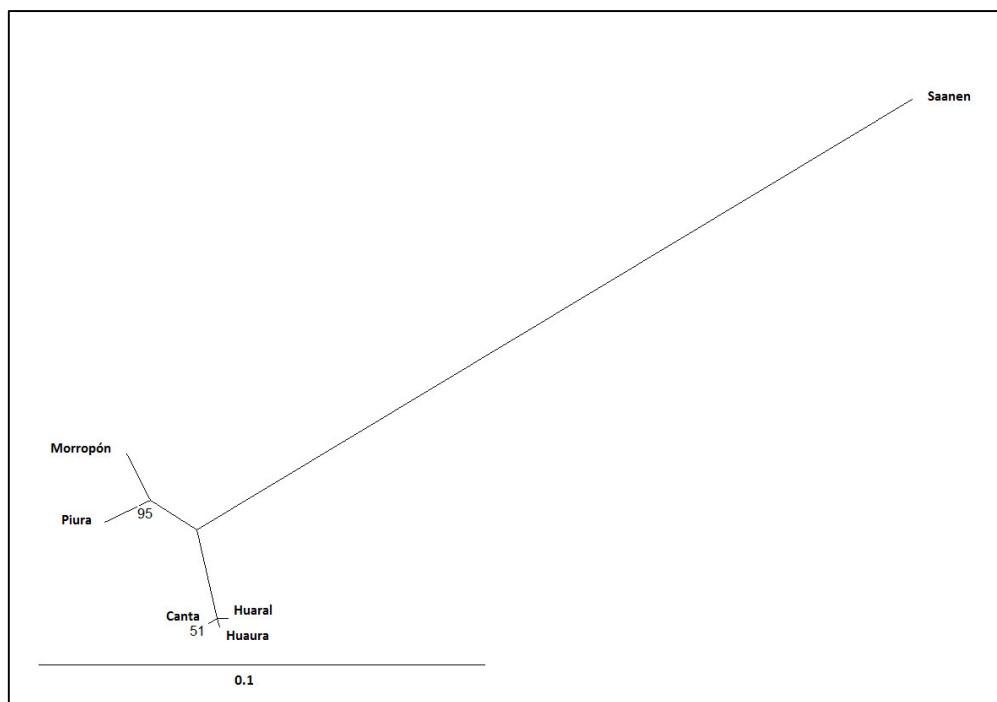


Figura 32: Dendrograma usando el método UPGMA y la distancia genética ponderada de Reynolds.

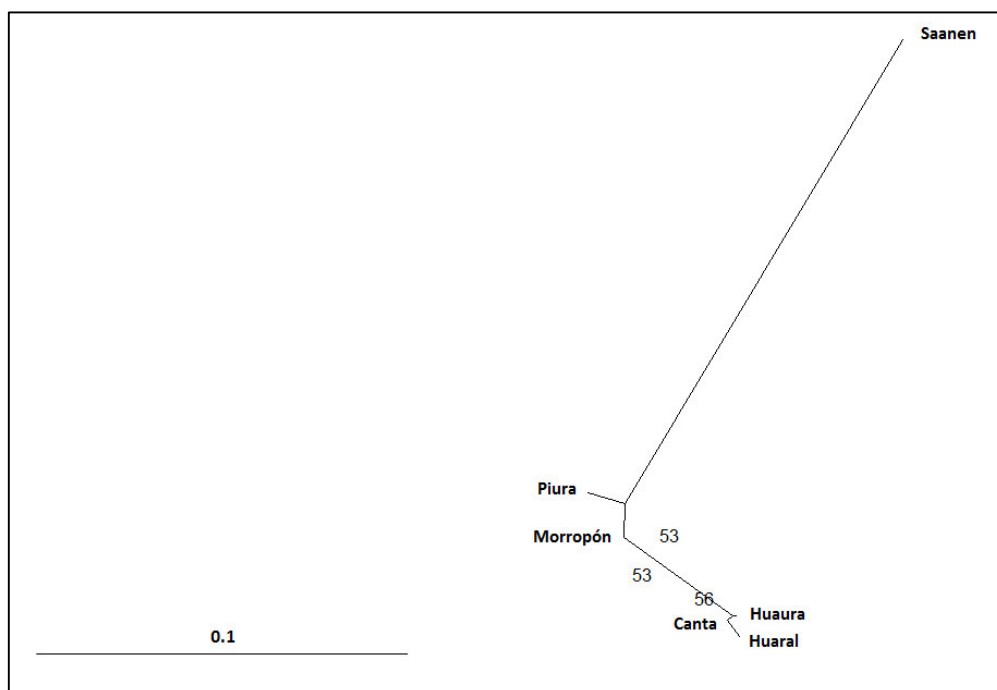


Figura 33: Dendrograma usando el método NJ y la distancia genética ponderada de Reynolds.

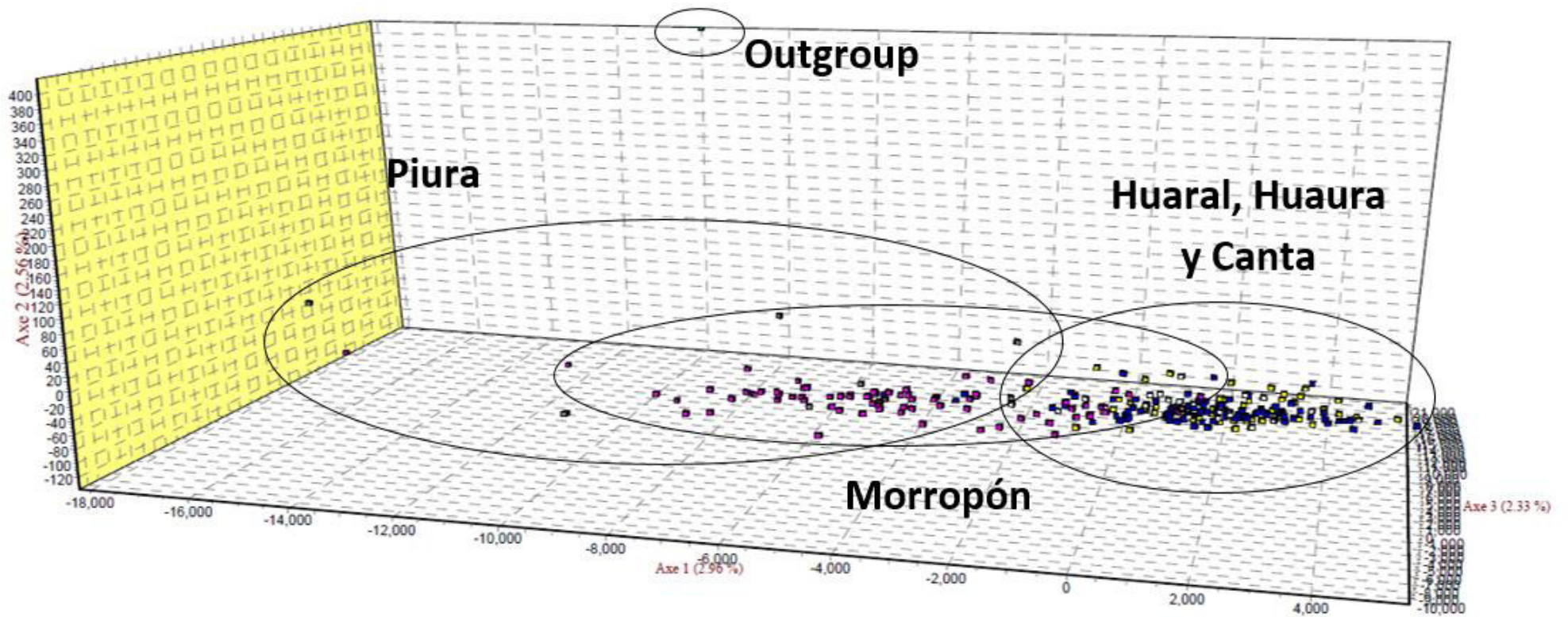


Figura 34: Diferenciación genética entre las 05 subpoblaciones y la población externa (Saanen) mediante AFC

7. DISCUSIÓN

7.1 Calidad de la extracción de ADN

Todas las muestras presentaron una integridad total (es decir, ausencia de fragmentación), característica que evita la amplificación de secuencias inespecíficas y permite la reproducibilidad de la técnica (Cornejo *et al.*, 2014).

Un 40.9% tuvieron valores de pureza entre 2.0 y 2.4, lo cual indica contaminación con ARN, sin embargo, esto no es problema para la amplificación de ADN, salvo que este se encuentre en cantidades enormes, lo cual conduce a un secuestro considerable de Mg^{2+} , cuyo caso, no se evidenció. Además, en el gel de agarosa, no se observó presencia de ARN o fragmentación para las muestras extraídas a partir de sangre, más si una ligera contaminación con ARN en las muestras extraídas a partir de folículos pilosos. Cabe resaltar que no se usó ARNasas después del cálculo del índice de calidad.

Solo una muestra tuvo un valor de pureza de 1.5, lo cual indica contaminación con proteínas, sin embargo, no se evidenció fragmentación ni contaminación con proteínas en el pocillo.

Solo el STR SRCRSP5 no amplificó en el individuo CH-093 a pesar de repetir la amplificación 3 veces, tener un índice de pureza de 1.7, no haber contaminación con ARN o proteínas en gel de agarosa y poseer alta integridad, lo cual podría indicar una mutación en la región complementaria al cebador en este individuo.

7.2 Análisis de la diversidad genética

Ginja *et al.* (2017) realizaron un estudio sobre 24 razas de cabra criolla de diferentes países del continente americano con el objetivo de caracterizar sus niveles de variabilidad genética y estructura poblacional, así como entender las relaciones genéticas entre estas poblaciones. En sus resultados se observa que el cluster de Perú tiene mayor proximidad genética con las cabras criollas de Bolivia, Venezuela, Cuba y

Argentina (razas tipo Angora, Chilluda *longhair*, Chilluda *shorthair*, Criolla del Noreste, Neuquina y Pampeana Coloreada) y en menor grado con la de las islas Galápagos. El cluster no incluye a las cabras de Ecuador, Colombia, Paraguay, EE.UU. (razas Myotonic, Española y San Clemente) y Brasil (razas Moxotó, Azul, Canindé, Repartita, Graúna, Marota y una no definida). Desde la perspectiva de la conservación, las comparaciones entre estimadores de diversidad de las poblaciones de Lima y Piura podrían ser más útiles con aquellas poblaciones con mayor relación genética. Por ejemplo, en caso de una pérdida de diversidad ocasionada por desastres naturales, selección artificial o deriva génica, se podría recomendar cruzamientos con poblaciones con alta diversidad y menor distancia genética, de esta manera sería más probable restablecer la diversidad genética original y con ello su capacidad adaptativa y productiva.

De los 21 marcadores STR utilizados, 17 fueron muy informativos por lo que pueden ser usados eficazmente para estudios de diversidad genética en poblaciones de cabra criolla de los departamentos de Lima y Piura. Los STRs OARFCB20, ILSTS008 e INRA063 resultaron ser medianamente informativos, mientras que ETH152 resultó ser poco informativo, por lo que no se recomiendan para estudios de diversidad genética en estas poblaciones (Raghavendra, 2016).

Gómez (2013), en poblaciones de cabra criolla apurimeña (Perú) corrobora el resultado para INRA063 (0.495). Menezes *et al.* (2006) y Aranguren-Méndez *et al.* (2013) en poblaciones de Brasil y Venezuela, respectivamente, reportan que el marcador INRA063 es también medianamente informativo (0.480 y 0.410); sin embargo, Chacón *et al.* (2010) y Serrano *et al.* (2014) en poblaciones de Cuba y México, respectivamente, reportan que es altamente informativo (0.603 y >0.5). Por otro lado, en poblaciones de África del Norte, Portugal e Indonesia tuvieron valores de 0.524, 0.529 y 0, respectivamente (Missohou *et al.*, 2011). Estos resultados indican una tendencia hacia

el aumento del contenido de información polimórfica, conforme aumenta la distancia genética para INRA063.

El valor de PIC para ILSTS008 (0.371) se encontró dentro del rango reportando para poblaciones de la india (0.273 – 0.510) (Fátima *et al.*, 2008; Kumar *et al.*, 2009), para OARFCB20 (0.366) fue menor al reportado en poblaciones de África del Norte (0.726; Missohou *et al.*, 2011), Turquía (0.720; Ağaoğlu y Ertuğrul, 2012) y la India (0.780; Behl *et al.*, 2003). Finalmente, ETH152 fue altamente informativo en poblaciones de Pakistan (0.61; Hussain *et al.*, 2013) e India (0.82; Behl *et al.*, 2003), resultado contrario a las poblaciones estudiadas (0.139), lo cual podría atribuirse a una mayor tasa de mutación en estas poblaciones.

No se detectaron loci con alelos nulos en la población total, sin embargo, se detectaron 4 en la población de Piura (CSRD247, ILSTS087, INRA063 y SRCRSP8). La presencia de los alelos nulos está relacionada a la mutación de las secuencias complementarias a los cebadores, lo que causaría que los alelos no amplifiquen o que la amplificación no sea detectable, incrementando la homocigosidad (Chapuis y Estoup, 2006).

Con la finalidad de descartar el efecto de sobreestimación de la homocigosidad en la población de Piura, se calculó la heterocigosis esperada (H_e) con y sin la presencia de loci con alelos nulos, no encontrándose una diferencia significativa ($p > 0.05$), lo que indica que su presencia no afecta a la interpretación de los resultados de diversidad genética y, por ende, para este análisis, se utilizaron los 21 STRs mencionados.

La diferencia en el número de alelos entre las dos poblaciones podría deberse al tamaño muestral, ya que, como indican Aranguren-Mendez *et al.* (2005): “cuanto mayor sea el número de individuos analizados, mayor es la probabilidad de identificar alelos poco frecuentes”. Además, podría deberse a causa de “cuellos de botella” que hubieran influido en la variabilidad alélica y, por ende, en los valores de diversidad (Kantanen *et al.*, 2000).

La presencia de alelos muy raros (<0.01) podría deberse a un origen reciente, a que estos alelos le otorguen una menor aptitud a su portador con respecto a otros alelos o que el locus, a pesar de no encontrarse afectado por selección, tenga una frecuencia baja debido a la deriva génica. El número de AMR en común fueron tres, lo que puede ser debido a mutaciones recurrentes en ambas poblaciones más que al flujo génico reciente (Hale *et al.*, 2012).

Los loci BM1258 y BM1818 están relacionados con el Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC), el cual ha sido reconocido hace mucho tiempo como un importante sistema de regulación inmune en la resistencia o susceptibilidad a enfermedades (Guang-Xin *et al.*, 2015), además de que los genes MHC se han convertido en uno de los marcadores moleculares más buscados para la investigación de variación genética adaptativa en vertebrados (Eizaguirre *et al.*, 2012; Kubinak *et al.*, 2012) y han sido bien caracterizados en bovinos (Salles *et al.*, 2011). Sin embargo, a pesar de estar relacionados a MHC, no se observa uno o más alelos fijados en ninguna de las poblaciones estudiadas, lo que podría sugerir que estos loci no se encuentren afectados por selección o que el proceso se encuentre en una etapa temprana.

El alto número de alelos en los loci BM1258 y BM1818 podría ser explicado por tipos de selección balanceadora, como la selección dependiente de la frecuencia o la ventaja de heterocigotos, sin embargo, estudios recientes sugieren que un alto número de alelos no sería posible solo por la ventaja de heterocigotos y que la selección impulsada por patógenos es más adaptable para explicar el alto polimorfismo en el MHC (Kamath y Getz, 2011; Zhang y He, 2013).

Los loci ETH152, ILSTS008 y OARFCB20 tuvieron alelos con una alta frecuencia (≥ 0.75), baja H_e (≤ 0.41) y un número de alelos menor a 7. Este resultado puede ser debido a que estén afectados por selección y que estos alelos de alta frecuencia les otorguen una mayor aptitud a sus portadores, lo cual podría esperarse dado que en poblaciones

vacunas holandesas Holstein-Friesian, el locus ETH152 está asociado al peso de nacimiento, facilidad de parto y producción de leche (Schrooten *et al.*, 2000); el locus ILSTS008 en ganado vacuno está asociado con el temperamento (Schmutz *et al.*, 2001) y el locus OARFCB20 está asociado en ovinos a la musculatura (Johnson *et al.*, 2003); las cuales son características relevantes a considerarse para mejorar el rendimiento del ganado y que por lo tanto, se tendería hacia una selección artificial.

Los alelos exclusivos tuvieron una frecuencia baja (<0.075 en ambas poblaciones), además, esto sumando a la baja estructura genética entre las poblaciones y a la ausencia de selección o una selección que afecte de la misma manera a ambas poblaciones, podría indicar que la baja frecuencia de estos alelos exclusivos se deba a la deriva génica.

La diversidad genética en ambas poblaciones fue alta ($H_e = 0.67$ para Lima y $H_e = 0.71$ para Piura); siendo ligeramente mayor en Piura, lo cual podría deberse a su mayor tamaño poblacional. La alta diversidad genética de las poblaciones puede ser resultado de la baja frecuencia de apareamientos dirigidos hacia la obtención de unos pocos rasgos de interés; así como el intercambio de ganado caprino entre caprinocultores, lo cual tiende a disminuir la endogamia. La H_e promedio de la población total fue 0.69 el cual fue menor al 0.70 indicado por Gómez (2013) para la población de Apurímac y al 0.71 indicado por Azor *et al.* (2008) para la población de Perú, sin embargo, fue mayor al 0.64 indicada por Ginja *et al.* (2017), también para la población de Perú. Con respecto al cluster en el que se encuentra la población peruana, esta fue igual a la Argentina y mayor a la del resto, que varió de 0.43 a 0.65 (Ginja *et al.*, 2017). Se registró el mismo valor que el hallado por Cañón *et al.* (2006) en 45 razas de cabras distribuidas en 15 países de Europa y el Medio Este. Así mismo, fue mayor que el 0.57 reportado por Traoré *et al.* (2009) para la población del Norte de África (0.57) y se encontró en el rango de 0.31 a 0.81 para poblaciones de Asia (Kim *et al.*, 2002; Behl *et al.*, 2003; Fatima *et*

al., 2008; Kumar *et al.*, 2009; Ağaoğlu y Ertuğrul, 2012; Sulabda *et al.*, 2012; Hussain *et al.*, 2013).

Sin embargo, las comparaciones realizadas sobre diversidad genética deben tomarse con cautela, debido a que los sets de marcadores microsatélites no fueron los mismos, aunque si se compartieron muchos de ellos.

El bajo coeficiente de endogamia (F_{IS}), el cual fue de 0.010 para Lima y 0.081 para Piura, podría ser explicado por los apareamientos dirigidos poco frecuentes, así como el intercambio, preferentemente de machos, entre los capricultores dentro de cada departamento.

Los loci CSRD247 e INRA006, no se encontraron en equilibrio Hardy-Weinberg (EHW), los cuales estarían causando la baja estructuración genética entre la población de Lima y Piura. Por otro lado, en la población de Piura solo el locus CSRD247 no se encontró en EHW, lo cual podría deberse a que se detectó alelos nulos para este marcador y no a un real desequilibrio génico.

La población total no se desvía del EHW ($F_{IS}= 0.036$) de forma significativa ($p>0.001$). Esto puede ser a causa del flujo génico, preferentemente de machos, entre las poblaciones de Lima y Piura; la predominancia de apareamientos no dirigidos debido al sistema de producción mayormente extensivo; diversidad de criterios en selección; así como el gran tamaño poblacional de estos departamentos (DGI-MINAG, 2008), el cual tiende a disminuir el efecto de la deriva génica.

7.3 Análisis de la estructura genética

Según Carlsson (2008), basado en simulaciones, demostró que los efectos de los alelos nulos no eran perjudiciales para las pruebas de agrupamiento de individuos por métodos bayesianos, como el realizado con la aplicación STRUCTURE. Además, que los valores de F_{ST} son ligeramente sobrestimados en presencia de alelos nulos y es improbable que

estos tengan impactos importantes en las conclusiones con respecto a la presencia o ausencia de estructura genética.

Por otro lado, Barker (1994) recomienda que el número mínimo de alelos por locus en marcadores microsatélites para estudios de distancia genética sea de cuatro, de tal manera que el error estándar sea reducido.

Debido a las razones anteriormente expuestas, para el cálculo de la estructura genética mediante los estadísticos F_{ST} , R_{ST} y agrupamiento de individuos por probabilidades bayesianas, se utilizaron los 21 STRs empleados en el análisis de diversidad genética.

Según la prueba de AMOVA- F_{ST} , la variación genética entre las poblaciones de Lima y Piura fue baja (3%). Este resultado fue corroborado con el estadístico F_{ST} , el cual tuvo un valor de 0.030, que de acuerdo con Wright (1978), indica una estructuración genética baja y con el estadístico R_{ST} que fue ligeramente mayor (0.045).

Se observa que las cabras poseen comúnmente un valor bajo de estructura genética, lo cual podría deberse a la predominancia del haplogrupo A del ADN_m (> 90% de los individuos) o por su gran movimiento en épocas pasadas a través de distintos territorios (Hartl *et al.*, 1990; Lin *et al.*, 2012). A su vez, la baja estructura genética entre las poblaciones de Lima y Piura puede también deberse al cruzamiento indiscriminado con otras razas sin objetivos bien definidos de selección (Medrano, 2000; Deza *et al.*, 2003); al flujo génico, principalmente de machos, a pesar de su lejanía geográfica; selección natural o artificial similar; así como la reducción del efecto de deriva génica debido al gran tamaño de estas dos poblaciones. Este valor es el mismo para la cabra apurimeña (0.03; Gómez, 2013) y menor al hallado en cabras de Brasil (0.079; Ginja *et al.*, 2017), Argentina (0.041; Ginja *et al.*, 2017), Europa y Medio-Este (0.069; Cañón *et al.*, 2006).

En el análisis de las subpoblaciones, Canta, Huaral y Huaura ($F_{ST} = 0.006$, $R_{ST} = 0.005$) tuvieron una menor estructura genética que entre Piura y Morropón ($F_{ST} = 0.020$, $R_{ST} = 0.029$). La baja estructura genética entre las subpoblaciones de cada departamento se

debería principalmente al alto flujo génico, causado por su cercanía geográfica. En estos casos se previene la diferenciación local; dado que, teóricamente, el flujo génico rebasa las consecuencias del fenómeno de deriva genética (Piñero *et al.*, 2008).

El número de agrupaciones genéticas más probable según el método de Evanno *et al.* (2005) es de 2, las cuales se corresponden con las poblaciones de Piura y Lima debido a la información previa sobre el origen de la muestra. Sin embargo, se observan varios individuos con mezclas de ambas poblaciones genéticas, lo cual se corrobora con la existencia de una baja estructura genética hallada por los estadísticos F_{ST} y R_{ST} , tanto para las poblaciones de Lima y Piura como para sus subpoblaciones.

8. CONCLUSIONES

- La diversidad genética intrapoblacional de cabras criollas en Lima y Piura fue alta, mientras que su diversidad interpoblacional fue baja.
- La estructura genética entre las poblaciones de Lima y Piura fue baja, del mismo modo entre las subpoblaciones de cada una de ellas, aunque en un menor grado.
- Las poblaciones de Lima y Piura no presentaron endogamia.
- Las distancias genéticas entre todas las subpoblaciones fueron bajas, aunque la subpoblación de Morropón se encuentra más relacionada con las subpoblaciones de Lima que la subpoblación de Piura.

9. RECOMENDACIONES

- Usar los loci INRA005, BM1258, INRA172, ILSTS019, MCM527, OARCP34, SRCRSP8, ILSTS087, BM1818, SRCRSP23, INRA023, HSC, SRCRSP5, MAF65, SPS113, CSRD247 e INRA006 para el estudio de diversidad genética en poblaciones de cabra criolla de los departamentos de Lima y Piura, debido a su alto valor informativo.
- Identificar loci comunes altamente informativos en otras poblaciones de cabras criollas, de tal manera que se pueda evaluar un mayor número de poblaciones de forma estandarizada.
- Estudiar la diversidad genética de otras poblaciones de cabra criolla en el Perú y la contribución de estas a la diversidad genética de la cabra criolla en el país, lo cual contribuiría a la planificación oportuna de programas de conservación y la identificación de acervos génicos únicos.
- Estudios de identificación de genes influyentes en la calidad de los diferentes productos, caracteres productivos, reproductivos; asociados con la susceptibilidad o resistencia a ciertas patologías, mediante la asociación con marcadores moleculares como STRs de localización conocida.
- El uso de arreglos de SNPs de alta densidad, los cuales ya han sido desarrollados a un costo significativamente bajo para varias especies de ganado, incluido las cabras, o la comparación entre genomas por secuenciamiento de última generación, que permitiría un análisis más refinado de la diversidad y estructura genética, así como la investigación de rasgos adaptativos y un mejor entendimiento de la historia evolutiva de la cabra criolla.
- Implementar reservorios de ADN como salvaguarda del acervo genético del caprino criollo, así como para el desarrollo de la investigación.

BIBLIOGRAFÍA

- ACHARYA, R. M. 1992. "Preface, preconference proceedings, invited papers". En: Fifty International Conference on Goats. India.
- AKANE, A.; SHIONO, H.; MATSUBARA, K.; NAKAMURA, H.; HASEGAWA, M. & KAGAWA, M. 1993. Purification of forensic specimens for the polymerase chain reaction (PCR) analysis. *Journal of Forensic Science* 38(3): 691-701.
- ALAIS, C. 1984. Ciencia de la Leche: Principios de Técnica Lechera. Ciudad de México, México: Compañía Editorial Continental, 594 p.
- ALLENDORF, F. W. & LUIKART, G. H. 2007. Conservation and the genetics of populations. *Mammalia* 71(4): 189-197.
- ARANGUREN-MENDEZ, J. A.; BRAVO, R.; ISEA, W.; VILLASMIL, Y. Y JORDANA, J. 2005. Los microsatélites (STR's), marcadores moleculares de ADN por excelencia para programas de conservación: una revisión. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal* 13(1): 30-42.
- ARANGUREN-MÉNDEZ, J.; PORTILLO-RÍOS, M.; RINCÓN, X.; MARTÍNEZ, A.; DICKSON, L. Y D'AUBETERRE, R. 2013. Diversidad genética en la cabra criolla venezolana mediante análisis con microsatélites. *Revista Científica* 23(3): 238-244.
- ARROYO, O. 1998. Producción de Caprinos. Lima, Perú: Ediciones Procabra, 399 p.
- AGAOGU, O. K. & ERTUGRUL, O. 2012. Assessment of genetic diversity, genetic relationship and bottleneck using microsatellites in some native Turkish goat breeds. *Small Ruminant Research* 105(1): 53-60.

- AZOR ORTIZ, P. J.; VALERA CÓRDOBA, M. M.; SARRIA, J.; AVILEZ, J. P.; NAHED, J.; DELGADO PERTÍÑEZ, M. Y CASTEL GENÍS, J. M. 2008. Estimación de las relaciones genéticas entre razas caprinas españolas y criollas utilizando microsatélites. *Información Técnica Económica Agraria* 104(2): 323-327.
- BALLOUX, F. & LUGON, N. 2002. The estimation of population differentiation with microsatellite markers. *Molecular Ecology* 11(2): 155-165.
- BARKER, J. S. F. 1994. "A global protocol for determining genetic distances among domestic livestock breeds". En: *Proceedings of the 5th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*. Ontario, Canada, pp. 501-508.
- BARKER, J. S. F. 1999. Conservation of livestock breed diversity. *Animal Genetic Resources Information* 25: 33-43.
- BEAUMONT, M. A. 1999. Detecting population expansion and decline using microsatellites. *Genetics* 153(4): 2013-2029.
- BEHL, R.; SHEORAN, N.; BEHL, J.; VIJH, R. K. & TANTIA, M. S. 2003. Analysis of 22 heterologous microsatellite markers for genetic variability in Indian goats. *Animal Biotechnology* 14(3): 167-175.
- BELKIR, K.; BORSA, P.; CHIKHI, L.; RAUFASTE, N. & BONHOMME, F. 1996-2004. GENETIX 4.05, logiciel sous Windows TM pour la genetique des populations. Laboratoire Genome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5000, Universite de Montpellier II, Montpellier, France.
- BJÖRKLUND, M. 2005. A method for adjusting allele frequencies in the case of microsatellite allele drop-out. *Molecular Ecology Notes* 5(3): 676-679.
- BONIN, A.; BELLEMAIN, E.; BRONKEN-EIDSEN, P.; POMPANON, F.; BROCHMANN, C. & TABERLET, P. 2004. How to track and assess genotyping

- errors in population genetics studies. *Molecular Ecology* 13(11): 3261-3273.
- BOTSTEIN, D.; WHITE, R. L.; SKOLMICK, H. & DAVIS, R. W. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics* 32(3): 314-331.
- BUTLER, J. M. 2005. Forensic DNA Typing. 2da ed. Massachusetts, EE. UU.: Academic Press, 660 p.
- BURROWS, J. 2003. "Producción y comercialización de leche de cabra y derivados". En: *VI Jornadas Chilenas de Buiatría*. Chile.
- CAÑÓN, J.; GARCÍA, D.; GARCÍA-ATANCE, M. A.; OBEXER-RUFF, G.; LENSTRA, J. A.; AJMONE-MARSAN, P. & DUNNER, S. 2006. Geographical partitioning of goat diversity in Europe and the Middle East. *Animal Genetics* 37(4): 327-334.
- CHACÓN, E.; MARTÍNEZ, A.; LA O, M. Y DELGADO, J. 2010. Caracterización genética de la cabra criolla cubana mediante marcadores microsatélites. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola* 44(3): 221-226.
- CHAPUIS, M. P. & ESTOUP, A. 2006. Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Molecular Biology and Evolution* 24(3): 621-631.
- CIRAD e INRA. 2002. "Contributions to sustainable livelihoods and development: realizing sustainable breeding programs in livestock production". En: *Proceedings of the 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*. Montpellier, France.
- CLUTTON-BROCK, J. 1999. A Natural History of Domesticated Mammals. 2da ed. Cambridge, United Kingdom: Cambridge University Press, 238 p.
- COCKERHAM, C. C. 1969. Variance of gene frequencies. *Evolution* 23(1): 72-84.

- CORDERO, M. 2003. "Historia de las relaciones veterinarias entre el viejo y el nuevo mundo". En: *XXXIV Congreso Internacional de Historia de la Medicina Veterinaria*. México, pp. 4-7.
- CORNEJO, R. A.; SERRATO, D. A.; AGUILAR, B. R. Y MUNIVE, M. G. R. 2014. Herramientas Moleculares Aplicadas en Ecología: Aspectos Teóricos y Prácticos. México: SEMARNAT, INECC, 256 p.
- COUTURIER, M. A. 1962. Le bouquetin des Alpes: *Capra aegagrus ibex ibex*. Grenoble, France.
- CROW, J. F. & KIMURA, M. 1970. An Introduction to Population Genetics Theory. New York, USA: Harper and Row Publishers Incorporation, 591 p.
- DAWSON, R. J. G.; GIBBS, H. L.; HOBSON, K. A. & YEZERINAC, S. M. 1997. Isolation of microsatellite DNA markers from a passerine bird, *Dendroica petechia* the yellow warbler, and their use in population studies. *Heredity* 79: 506-514.
- DEZA, C.; BASCUR, I.; PÉREZ, G.; DÍAZ, M. P. Y BARIOGLIO, C. F. 2003. Identificación de variables morfoestructurales y de polimorfismos sanguíneos para la caracterización de cabras criollas en el NO de Córdoba, Argentina. *Agriscientia* 20: 69-77.
- DGI-MINAG. 2008. Sector agropecuario, caprinos. Ministerio de Agricultura. Lima, Perú. Disponible en: <http://minagri.gob.pe/portal/objetivos/40-sector-agrario/situacion-de-las-actividades-de-crianza-y-produccion/299-caprinos?limitstart=0> (Consultado: mayo del 2016).
- EARL, D. A. & VONHOLDT, B. M. 2012. STRUCTURE HARVESTER: A Website and Program for Visualizing STRUCTURE Output and Implementing the Evanno Method. *Conservation Genetics Resources* 4(2): 359-61.

- EDING, H. & LAVAL, G. 1999. Measuring genetic uniqueness in livestock. En: Oldenbroek, K. (Ed.). *Genebanks and the Management of Farm Animal Genetic Resources*. The Netherlands: IDO-DL press, pp. 33-58.
- EGUIARTE, L.; AGUIRRE, E.; SCHEINVAR, E.; GONZÁLEZ, A. Y SOUZA, V. 2015. Flujo génico, diferenciación y estructura genética de las poblaciones, con ejemplos en especies de plantas mexicanas. En: Becerra, A.; Castañeda, A. y Piñero, D. (Eds.). *Evolución Orgánica*. Cap. 3. México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- EIZAGUIRRE, C.; LENZ, T.; KALBE, M. & MILINSKI, M. 2012. Rapid and adaptative evolution of MHC genes under parasite selection in experimental vertebrate populations. *Nature Communications* 3: 621.
- ELLEGREN, H.; MOORE, S.; ROBINSON, N.; BYRNE, K.; WARD, W. & SHELDON, B. C. 1997. Microsatellite evolution: a reciprocal study of repeat lengths at homologous loci in cattle and sheep. *Molecular Biology and Evolution* 14(8): 854-860.
- ESPINOSA, L. 2007. Guía práctica sobre la técnica de PCR. En: Eguiarte, L. E.; Souza, V. y Aguirre, X. (Eds.). *Ecología Molecular*. México: Instituto Nacional de Ecología, pp. 251-278.
- ESTOUP, A. & CORNUET, J. M. 1999. Microsatellite evolution: inferences from population data. En: Goldstein, D. & Schlotterer, C. (Eds.). *Microsatellites Evolution and Applications*. Cap. 5. New York, USA: Oxford University Press, pp. 49-65.
- EVANNO, G.; REGNAUT, S. & GOUDET, J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology* 14(8): 2611-2620.

- EXCOFFIER, L.; SMOUSE, P. E. & QUATTRO, J. M. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131(2): 479-491.
- FATIMA, S.; BHONGA, C. D.; RANKA, D. N. & JOSHI, C. G. 2008. Genetic variability and bottleneck studies in Zalawadi, Gohilwadi and Surti goat breeds of Gujarat (India) using microsatellites. *Small Ruminant Research* 77(1): 58-64.
- FAO. 1999. The Global Strategy of the Management of Farm Animal Genetic Resources. Executive Brief. Rome, Italy.
- FAO. 2011. Molecular Genetic Characterization of Animal Genetic Resources. Rome, Italy.
- FAO. 2015. The Second Report on the State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture. Rome, Italy.
- FELSENSTEIN, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* 39(4): 783-791.
- FERREIRA, M. E. & GRATTAPAGLIA, D. 1998. Introducción al Uso de Marcadores Moleculares en el Análisis Genético. Brasilia: Embrapa, 220 p.
- GANDINI, G. & OLDENBROEK, K. 2007. Strategies for moving from conservation to utilisation. En: Oldenbroek, K. (Ed.). Utilization and Conservation of Farm Animal Genetic Resources. Netherlands: Wageningen Academic Publishers, pp. 29-54.
- GARCÍA MARTÍNEZ, D. 2008. Diversidad genética y establecimiento de prioridades en esquemas de conservación. Ejemplo de aplicación en la raza de Lidia. Asesor: Cañón Ferreras, D. J. Tesis de doctorado. Universidad Complutense de Madrid, España.

- GILPIN, M. E. 1986. Minimum viable populations: processes of species extinction. *Conservation biology: the science of scarcity and diversity*: 19-34.
- GINJA, C.; GAMA, L. T.; MARTÍNEZ, A.; SEVANE, N.; MARTIN-BURRIEL, I.; LANARI, M. R.; REVIDATTI, M. A.; ARANGUREN-MÉNDEZ, J. A.; BEDOTTI, D. O.; RIBEIRO, M. N. & SPONENBERG, P. 2017. Genetic diversity and patterns of population structure in Creole goats from the Americas. *Animal genetics* 48(3): 315-329.
- GOLDSTEIN, D. B. & POLLOCK D. D. 1994. Least squares estimation of molecular distance-noise abatement in phylogenetic reconstruction. *Theoretical Population Biology* 45(3): 219-226.
- GOLSTEIN, D. B.; ZHIVOTOVSKY, L. A.; NAYAR, K.; RUÍZ, L. A.; CAVALLI-SFORZA, L. L. & FELTMAN, M. W. 1996. Statistical properties of the variation at linked microsatellite loci: implications for the history of human Y-chromosome. *Molecular Biology and Evolution* 13(9): 1213-1218.
- GÓMEZ, N. 2013. Caracterización estructural, morfológica y genética de la población de cabras autóctonas de la región Apurímac del Perú. Asesores: Vidal, J. J. y Milán M. J. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona, España.
- GROVES, C. & GRUBB, P. 2011. Ungulate Taxonomy. Baltimore, USA: The Johns Hopkins University Press, 317 p.
- GUANG-XIN, E.; HUANG, Y. F.; ZHAO, Y. J.; MA, Y. H.; NA, R. S.; ZHANG, J. H.; GAO, H. J. & WU, X. 2015. Genetic variability of ten Chinese indigenous goats using MHC-linked microsatellite markers. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 167(3): 196-199.

- GUO, S. W. & THOMPSON, E. A. 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportions for multiple alleles. *Biometrics* 48(2): 361-372.
- HALE, M. L.; BURG, T. M. & STEEVES, T. E. 2012. Sampling for microsatellite-based population genetic studies: 25 to 30 individuals per population is enough to accurately estimate allele frequencies. *PLoS ONE* 7(9): e45170.
- HANCOCK, J. M. 1999. Microsatellites and other simple sequences: genomic context and mutational mechanisms. En: Goldstein, D. B. & Schlötterer, C. (Eds.). *Microsatellites: Evolution and Applications*. United Kingdom: Oxford University Press, pp. 1-9.
- HARTL, G. B.; BURGER, H.; WILLING, R. & SUCHENTRUNK, F. 1990. On the biochemical systematics of the Caprini and Rupicapriini. *Biochemical Systematics and Ecology* 18(2-3): 175-182.
- HILLIS, D. M. & WIENS, J. J. 2000. Molecules versus morphology in systematics: conflicts, artifacts, and misconceptions. *Phylogenetic analysis of morphological data*: 1-19.
- HOFFMAN, J. I. & AMOS, W. 2005. Microsatellite genotyping errors: Detection approaches, common sources and consequences for paternal exclusion. *Molecular Ecology* 14(2): 599-612.
- HUSSAIN, T.; BABAR, M.; SADIA, H.; SHAHEEN, M.; NADEEM, A.; ALI, A. & SHAH, S. 2013. Microsatellite markers based genetic diversity analysis in Damani and Nachi goat breeds of Pakistan. *Pakistan Veterinarian Journal* 33(4): 520-522.
- INEI, 2012. IV Censo Nacional Agropecuario (CENAGRO). Lima, Perú. Disponible en: <http://censos.inei.gob.pe/cenagro/tabulados/> (Consultado: mayo del 2016).

- IUCN. 2018. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2018.1. Disponible en: <http://www.iucnredlist.org/> (Consultado: septiembre del 2018).
- JOHNSON, P. L.; MCEWAN, J. C. & BLAIR, H. T. 2003. Use of lexical analysis to identify positional candidate genes underlying a QTL region. *Association for the Advancement of Animal Breeding and Genetics* 15: 107-110.
- KALINOWSKI, S. T.; TAPER, M. L. & MARSHALL, T. C. 2007. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Molecular Ecology* 16(5): 1099-1106.
- KAMATH, P. L. & GETZ, W. M. 2011. Adaptive molecular evolution of the Major Histocompatibility Complex genes, DRA and DQA, in the genus *Equus*. *BMC Evolutionary Biology* 11: 128.
- KANTANEN, J.; OLSAKER, I.; HOLM, L. E.; LIEN, S.; VILKKI, J.; BRUSGAARD, K.; EYTHORSDDOTTIR, E.; DANELL, B. & ADALSTEINSSON, S. 2000. Genetic diversity and population structure of 20 North European cattle breeds. *Journal of Heredity* 91: 446–457.
- KEMP, S. J.; HISHIDA, O.; WAMBUGU, J.; RINK, A.; LONGERI, M. L.; MA, R. Z.; DA, J.; LEWIN, H. A.; BARENDSE, W. & TEAALE, A. J. 1995. A panel of polymorphic bovine, ovine and caprine microsatellite markers. *Animal Genetics* 26(5): 299-306.
- KIM, K. S.; YEO, J. S.; LEE, J. W.; KIM, J. W. & CHOI, C. B. 2002. Genetic diversity of goats from Korea and China using microsatellite analysis. *Asian Australasian Journal of Animal Sciences* 15(4): 461-465.
- KREADER, C. A. 1996. Relief of amplification inhibition in PCR with bovine serum albumin or T4 gene 32 protein. *Applied and Environmental Microbiology* 62: 1102-1106.

- KUBINAK, J. L.; RUFF, J. S.; HYZER, C. W.; SLEV, P. R. & POTTS, W. K. 2012. Experimental viral evolution to specific host MHC genotypes reveals fitness and virulence trade-offs in alternative MHC types. En: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. USA*, 109(9): 3422-3427. <https://doi.org/10.1073/pnas.1112633109>
- KUMAR, S.; DIXIT, S.; VERMA, N.; SINGH, D.; PANDE, A.; KUMAR, S.; CHANDER, R. & SINGH, L. 2009. Genetic diversity analysis of the Gohilwari breed of Indian goat (*Capra hircus*) using microsatellite markers. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences* 4: 49-57.
- LAGUNA, E. 1991. El Ganado Español, un Descubrimiento para América. Madrid, España: Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación de España, 237 p.
- LANGELLA, O. 2002-2010. Software populations v. 1.2.30. Bioinformatic organization, CNRS UPR9034, France.
- LI, W. S. 1997. Molecular Evolution. USA: Sinauer Associates incorporated, 487 p.
- LIN, B. Z.; ODAHARA, S.; ISHIDA, M.; KATO, T.; SASAZAKI, S.; NOZAWA, K. & MANNEN, H. 2012. Molecular phylogeography and genetic diversity of East Asian goats. *Animal Genetics* 44: 79-85.
- LITT, M. & LUTY, J. A. 1989. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *American Journal of Human Genetics* 44(3): 397.
- LUNA DE LA FUENTE, C. 1968. Ventajas de la explotación intensiva de caprinos. Facultad de Zootecnia, Universidad Nacional Agraria La Molina (*Serie Animales Menores* 4).

- MANCEAU, V.; DESPRÉS, L.; BOUVET, J. & TABERLET, P. 1999. Systematics of the genus *Capra* inferred from mitochondrial DNA sequence data. *Molecular and Phylogenetics Evolution* 13(3): 504-510.
- MARTÍNEZ, A.; QUIROZ, J.; CAMACHO, M. E.; BARBA, C. Y VEGA-PLA, J. L. 2005. Caracterización genética de poblaciones caprinas. *OVIS* 100: 43-56.
- MARTÍNEZ, R. D. 2008. Caracterización genética y morfológica del bobino criollo argentino de origen patagónico. Asesor: Baselga, M. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia, España.
- MEDRANO, J. A. 2000. Recursos animales locales del centro de México. *Archivos de Zootecnia* 49: 385-390.
- MENEZES, M. P. C. 2005. Variabilidade e relações genéticas entre raças caprinas nativas brasileiras, ibéricas e canárias. *Revista Científica de Produção Animal* 7(1).
- MENEZES, M. P. C.; MARTÍNEZ, A. M.; RIBEIRO, M. N.; PIMENTA FILHO, E. C. & BERMEJO, J. V. D. 2006. Caracterização genética de raças caprinas nativas brasileiras utilizando-se 27 marcadores microssatélites. *Revista Brasileira de Zootecnia* 35(4): 1336-1341.
- MISSOHOU, A.; POUTYA, M. R.; NENONENE, A.; DAYO, G. K.; AYSSIWEDE, S. B.; TALAKI, E.; ISSA, Y. & FANÉ, A. 2011. Genetic diversity and differentiation in nine West African local goat breeds assessed via microsatellite polymorphism. *Small Ruminant Research* 99(1): 20-24.
- MULLIS, K. B. 1990. Target amplification for DNA analysis by the polymerase chain reaction. *Annales de Biologie Clinique* 48(8): 579.

- NADERI, S.; REZAEI, H. R.; POMPANON, F.; BLUM, M. G.; NEGRINI, R.; NAGHASH, H. R.; BALKIZ, Ö.; MASHKOUR, M.; GAGGIOTTI, O. E.; AJMONE-MARSAN, P. & KENCE, A. 2008. The goat domestication process inferred from large-scale mitochondrial DNA analysis of wild and domestic individuals. En: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. USA, 105(46): 17659-17664.
- NAGY, S.; POCZAI, P.; CERNÁK, I.; GORJI, A. M.; HEGEDŰS, G. & TALLER, J. 2012. PICcalc: an online program to calculate polymorphic information content for molecular genetic studies. *Biochemical Genetics* 50(9): 670-672.
- NEI, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. En: *Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America*. USA, 70: 3321-3323.
- OLDENBROEK, K. 2007. Utilization and Conservation of Farm Animal Genetic Resources. The Netherlands: Wageningen Academic Publishers, 103 p.
- OLIVEIRA, E. J.; PADUA, J. G.; ZUCCHI, M. I.; VENCOVSKY, R. & CARNEIRO-VIEIRA, M. L. 2006. Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. *Genetics and Molecular Biology* 29(2): 294-307.
- PÁEZ, R. Y MAGGIO, A. 1997. Leche de cabra, historia y características. Argentina, Buenos Aires: Infogranjas. En: <http://www.infogranjas.com.ar/avicultura/369-capriinos/333-leche-de-cabra-historia-y-caracteristicas> (Consultado: octubre del 2018).
- PAGE, R. D. M. 2001. TREEVIEW, tree drawing software v. 1.6.6 for Apple Macintosh and Microsoft Windows. *Computer Applications in the Biosciences* 12: 357-358.

- PEAKALL, R. & SMOUSE, P. E. 2012. GenAEx 6.5: Genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching, research, and update. *Bioinformatics* 28(19): 2537-39.
- PICO, M. B. & ESTERAS, C. 2012. Marcadores moleculares basados en PCR: Marcadores SSR o STR (Simple Sequence Repeats o Short Tandem Repeats). Microsatelites. Artículo docente. Universitat Politècnica de Valencia. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Ambiente. Disponible en: <http://riunet.upv.es/handle/10251/16743> (Consultado: noviembre de 2017).
- PIDANCIER, N.; JORDAN, S.; LUIKART, G. & TABERLET, P. 2006. Evolutionary history of the genus *Capra* (Mammalia, Artiodactyla): discordance between mitochondrial DNA and Y-chromosome phylogenies. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 40(3): 739-749.
- PILGRIM, G. E. 1947. The evolution of the buffaloes, oxen, sheep and goats. *Zoological Journal of the Linnean Society* 41: 272-286.
- PIÑERO, D.; CABALLERO-MELLADO, J. y CABRERA-TOLEDO, D. 2008. La diversidad genética como instrumento para la conservación y el aprovechamiento de la biodiversidad: estudios en especies mexicanas. En: Conocimiento Actual de la Biodiversidad, Vol. I. México: CONABIO, pp. 437-494.
- PORTER, R. 1996. "The Cretan wild goat (*Capra aegagrus cretica*) and the Thera antelopes". En: Reese, D. S. (Ed.). Pleistocene and Holocene Fauna of Crete and Its First Settlers. Prehistory Press, 295-336.
- PRITCHARD, J. K.; WEN, X. & FALUSH, D. 2010. Documentation for Structure Software: Version 2.3. University of Chicago & University of Oxford.

- RAGHAVENDRA, C. 2016. Genetic characterization of Mahabubnagar goats based on microsatellite markers. Master Thesis. Narasimha Rao Telangana State University, India.
- RAMAKERS, C.; RUIJTER, J. M.; DEPREZ, R. H. & MOORMAN, A. F. 2003. Assumption-free analysis of quantitative real-time polymerase chain reaction (PCR) data. *Neuroscience Letters* 339: 62-66.
- REYNOLDS, J.; WEIR, B. S. & COCKERHAM, C. C. 1983. Estimation of the coancestry coefficient basis for a short-term genetic distance. *Genetics* 105(3): 767-779.
- RICHARDSON, C. W. 2004. Let's learn about dairy goats and goat's milk. Oklahoma Cooperative Extension Service, Oklahoma State University (*Boletin* 424: 1-4).
- ROPIQUET, A. & HASSANIN, A. 2006. Hybrid origin of the pliocene ancestor of wild goats. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 41: 395-404.
- ROSSEN, L.; NORSKOV, P.; HOLMSTROM, K. & RASMUSSEN, O. F. 1992. Inhibition of PCR by components of food samples, microbial diagnostic assays and DNA-extraction solutions. *International Journal of Food Microbiology* 17: 37-45.
- ROUSSET, F. 2008. GENEPOP-007: a complete reimplementaion of the GENEPOP software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources* 8: 103-106.
- SAITOU, N. & NEI, M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4(4): 406-425.
- SALLES, P.; SANTOS, S. C.; RONDINA, D. & WELLER, M. 2011. Genetic variability of six indigenous goat breeds using major histocompatibility complex-associated microsatellite markers. *Journal of Veterinary Science* 12(2): 127-132.

- SAMBROOK, J. & RUSSELL, D. W. 2006. The Condensed Protocols from Molecular Cloning: a Laboratory Manual. New York, USA: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 800 p.
- SEIDRS, 2000. Manual de Razas Caprinas. Nuevo León, México. Disponible en: http://www.agronuevoleon.gob.mx/oeidrus/ESTUDIOS_E_INVESTIGACIONES/GANADERIA/manuales%20caprino/manual2.PDF/ (Consultado: mayo del 2016).
- SCHALLER, G. B. 1977. Mountain Monarchs: Wild Sheep and Goats of the Himalaya. Chicago, USA: University of Chicago Press, 425 p.
- SCHMUTZ, S. M.; STOOKEY, J. M.; WINKELMAN-SIM, D. C.; WALTZ, C. S.; PLANTE, Y. & BUCHANAN, F. C. 2001. A QTL study of cattle behavioral traits in embryo transfer families. *Journal of Heredity* 92(3): 290-292.
- SCHROOTEN, C.; BOVENHUIS, H.; COPPIETERS, W. & VAN ARENDONK, J. A. M. 2000. Whole genome scan to detect quantitative trait loci for conformation and functional traits in dairy cattle. *Journal of dairy science* 83(4): 795-806.
- SELKOE, K. A. & TOONEN, R. J. 2006. Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecology Letters* 9(5): 615-629.
- SERRANO, C.; JIMÉNEZ, A. P.; BEDOYA, J.; ARCILA, V.; PEREZ, V.; SERRANO, L. K. y MALPICA, M. E. 2014. Diversidad genética de la cabra santandereana mediante marcadores microsatélite. *Actas Iberoamericanas de Conservación Animal* 4: 105-107.
- SHACKLETON, D. M. 1997. Wild Sheep and Goats and their Relatives. Status Survey and Conservation Action Plan for the Caprinae. United Kingdom: IUCN, Gland and Cambridge, 400 p.

- SIMPSON, J. 1997. Molecular markers. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 60: 73-76.
- SLATKIN, M. 1994. Flujo génico y estructura de las poblaciones. *Ecological Genetics* 34: 1-11.
- SNEATH, P. H. & SOKAL, R. R. 1973. Numerical Taxonomy-The Principles and Practice of Numerical Classification. San Francisco, USA: International Association for Plant Taxonomy.
- SULABDA, N.; SUSARI, N., HERYANI, N. & PUJA, I. 2012. Genetic diversity of Gembrong goat based on DNA microsatellite markers. *Indonesian Journal of Animal and Veterinary Science* 17: 25-35.
- SUNNUCKS, P. 2000. Efficient genetic markers for population biology. *Trends in Ecology & Evolution* 15(5): 199-203.
- TAKADA, T.; KIKKAWA, Y.; YONEKAWA, H.; KAWAKAMI, S. & AMANO, T. 1997. Bezoar (*C. aegagrus*) is a matriarchal candidate for ancestor of domestic goat (*C. hircus*): evidence from the mitochondrial DNA diversity. *Biochemical Genetics* 35(9-10): 315–326.
- TAKAHASHI, K. & NEI, N. 2000. Efficiencies of fast algorithms of phylogenetic inference under the criteria of maximum parsimony, minimum evolution, and maximum likelihood when a large number of sequences are used. *Molecular Biology and Evolution* 17: 1251-1258.
- TAPIO, M.; TAPIO, I.; GRISLIS, Z.; HOLM, L. E.; JEPPSSON, S.; KANTANEN, J.; MICEIKIENE, I.; OLSAKER, I.; VIINALASS, H. & EYTHORSDDOTTIR, E. 2005. Native breeds demonstrate high contributions to the molecular variation in Northern European sheep. *Molecular Ecology* 14: 3951-3963.

- TAUTZ, D. 1989. Hypervariability of simple sequences as a general source of polymorphic DNA markers. *Nucleic Acid Research* 17: 6463-6471.
- TRAORÉ, A.; ÁLVAREZ, I.; TAMBOURÁ, H. H.; FERNÁNDEZ, I.; KABORÉ, A.; ROYO, L. J.; GUTIÉRREZ, J. P.; SANGARÉ, M.; OUÉDRAOGO-SANOU, G.; TOGUYENI, A. & SAWADOGO, L. 2009. Genetic characterization of Burkina Faso goats using microsatellite polymorphism. *Livestock science* 123(2): 322-328.
- VAN OOSTERHOUT, C.; HUTCHINSON, W. F.; WILLS, D. P. & SHIPLEY, P. 2004. MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Resources* 4(3): 535-538.
- VENDRAMIN, G. G.; LELLI, L.; ROSSI, P. & MORGANTE, M. 1996. A set of primers for the amplification of 20 chloroplast microsatellites in Pinaceae. *Molecular Ecology* 5(4): 595-598.
- WANG, M. L.; BARKLEY, N. A. & JENKINS, T. M. 2009. Microsatellite markers in plants and insects part I: applications of biotechnology. *Genes, Genomes and Genomics* 3(1): 54-67.
- WEIR, B. S. & COCKERHAM, C. C. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38: 1358-1370.
- WERNICKE, E. 1937. El paso del ganado lanar del antiguo al nuevo mundo. *Anales de la Sociedad Rural Argentina*: 345-352
- WIGGINTON, J. E.; CUTLER, D. J. & ABECASIS, G. R. 2005. A note on exact tests of Hardy-Weinberg Equilibrium. *Amimal Journal of Human Genetics* 76(5): 887-893.
- WILSON, I. G. 1997. Inhibition and facilitation of nucleic acid amplification. *Applied and Environmental Microbiology* 63: 3741-3751.

- WINTERØ, A. K.; FREDHOLM, M. & THOMSEN, P. D. 1992. Variable (dG-dT)_n·(dC-dA)_n sequences in the porcine genome. *Genomics* 12(2): 281-288.
- WRIGHT, S. 1951. The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics* 15: 323-354.
- WRIGHT, S. 1969. Evolution and the Genetics of Populations, Vol. 2: The Theory of Gene Frequencies. Chicago, USA: University of Chicago Press.
- WRIGHT, S. 1978. Evolution and the Genetics of Natural Populations, Vol. 4: Variability within and among Natural Populations. Chicago, USA: University of Chicago Press.
- YAÑEZ, V. O. 2002. Aislamiento y caracterización de marcadores moleculares microsatélites a partir de la construcción de librerías genómicas enriquecidas de camote (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.). Tesis para optar al título de Bachiller en Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú.
- ZALAPA, J. E.; CUEVAS, H.; ZHU, H. Y.; STEFFAN, S.; SENALIK, D.; ZELDIN, E.; MCCOWN, B. HARBUT, R. & SIMON, P. 2012. Using Next-Generation Sequencing approaches to isolate Simple Sequence Repeat (SSR) loci in the plant sciences. *American Journal of Botany* 99(2):193-208.
- ZEDER, M. A. & HESSE, B. 2000. The initial domestication of goats (*Capra hircus*) in the Zagros Mountains 10,000 years ago. *Science* 287: 2254-2257.
- ZHANG, M. & HE, H. 2013. Parasite-mediated selection of major histocompatibility complex variability in wild brandt's voles (*Lasiopodomys brandtii*) from Inner Mongolia, China. *BMC Evolutionary Biology* 13: 149.

ANEXOS

Anexo 1: Encuesta para los criadores de cabras criollas.

ENCUESTA-CAPRINOS

Dueño: _____		Fecha: ____ - ____ - ____	
Edad: _____	Género: () ()		
Reg: _____	Prov: _____	Dist: _____	Localid: _____

A. INFORMACION GENERAL

- I. Animales de cría conjunta con la cabra
() Ovinos () Bovinos () Porcinos () Camélido () Otro _____
- II. Núm. inicial de cabras _____ a. Machos: _____ b. Hembras _____ Año: _____
- III. Núm. actual de cabras _____ a. Machos: _____ b. Hembras _____
- IV. Identificación de los animales No () Si () Especificar (arete, otro): _____
- V. Región de procedencia: _____
- VI. Lugar de venta: () Chacra () Distribuidor () Mercado
frecuencia de venta: _____ costo de venta \$/: _____
- VII. Alimentación a) Balanceada b) otro _____
- VIII. Capacitación recibida: No () Si () Tema/Capacitante: _____
- IX. Vacunas: No () Si () Frecuencia: 02 veces al año () 01 vez al año ()
- X. Problemas sanitarios frecuentes _____
- XI. Cruzamientos: Dirigido () Aleatorio ()
- XII. Reproductores: _____ : No () Si () N° () Machos () Hembras

B. DESCRIPCIONES

- I. Características particulares: _____

C. APTITUD

- I. Usos principales de esta población:
() Reproductores () Autoconsumo () leche () Leche () Investigación () Otros

- II. Sistemas de producción observada
() Semi extensiva () Extensiva () Mixta

Anexo 2: Ficha de campo utilizada en el muestreo.

FICHA CAMPO DE CAPRINOS CRIOLLOS									
RESPONSABLES Eudosio Veli/ Wendy Acuña/ Cristian Bustamante				FECHA: / /					
COMUNIDAD:				DISTRITO:		PROV:		DEPTO:	
LATITUD:				LONGITUD:		ALTURA:			
Nº	COD. MUESTRA LABORATORIO	ID (Nº ARETE)	REGISTRO/ TATUAJE/ OTROS	SEXO	COLOR	EDAD	PROPIETARIO	Nº FOTO	OBSERVACIONES
1									
2									
3									
4									
5									
6									
7									
8									
9									
10									

Anexo 3: Georreferencia en grados decimales de los lugares de colecta en los departamentos de Lima y Piura.

DEPARTAM.	PROV.	DISTR.	COMUNIDAD	LAT.	LONG.
Lima	Huaral	Huaral	Jesús del Valle	-11.5145277777778	-77.1946666666667
			La Huaca	-11.5121111111111	-77.1928888888889
			San Isidro	-11.4674444444444	-77.2112777777778
	Huaura	Chancay	San Martín	-11.5224166666667	-77.2876388888889
		Huaura	3 de Mayo	-11.0657777777778	-77.6216111111111
			San Pedrito-Acaray	-11.0595555555556	-77.5395000000000
		Vegueta	La Perlita	-11.0205833333333	-77.6289444444444
		Sayan	Quintay	-11.0999722222222	-77.1713611111111
	Canta	Santa Rosa de Quives	Macas	-11.6832222222222	-76.9257777777778
Piura	Piura	Castilla	Virgen de Fátima	-5.1468900000000	-80.4157240000000
			Santa Rosa	-5.1541400000000	-80.1770900000000
		Piura	Nueva esperanza	-5.1553800000000	-80.1768900000000
	Morropón	Chulucanas	Santa Rosa	-5.1541400000000	-80.1770900000000
			Alto el gallo	-5.2083800000000	-80.1895400000000
		Tambo Grande	Valle Hermosa	-5.2182500000000	-80.1867800000000
			Hualtaco II	-4.8569300000000	-80.3059300000000

Anexo 4: Protocolo de aislamiento de ADN genómico a partir de sangre.

PROTOCOLO DE EXTRACCIÓN DE ADN GENÓMICO A PARTIR DE LEUCOCITOS

DIA 1

- 1) Adicionar 500 µL de tampón TE 20:5 al cúmulo de leucocitos.
- 2) Adicionar 75 µL de SDS 10% (No formar espuma). Vórtex.
- 3) Adicionar 15 µL de Proteinasa K. Vórtex.
- 4) Encubar en el termobloque a 56 °C y a 800 rpm por 3 horas. Verificar que la capa de leucocitos de haya disuelto
- 5) Agregar 500.0 µL de acetato de potasio (Ac-K) 3.0 M. Vórtex.
- 6) Refrigerar 10' a -20 °C.
- 7) Centrifugar por 15' a 14000 rpm a 10 °C.
- 8) Separar todo el sobrenadante en 02 tubos de 1.5 mL.
- 9) Adicionar 500 µL de cloroformo-alcohol isoamílico (CL-AI) 24:1. Dar vórtex.
- 10) Centrifugar 15' a 14000 rpm a 10 °C.
- 11) Pasar la fase acuosa otros dos tubos de 1.5 mL.
- 12) Agregar isopropanol hasta 1.5 mL.
- 13) Inversión suave los tubos hasta observar el algodón de ADN.
- 14) Refrigerar 30' a -20 °C.
- 15) Centrifugación por 5' a 14000 rpm, 10 °C. Desechar el sobrenadante mediante inversión.
- 16) Agregar 300.0 µL de tampón TE 20:5, disolver el pellet y almacenar a 4 °C.

DIA 2

- 17) Adicionar 200 µL de Ac-K 3 M. Vórtex.
- 18) Adicionar 500 µL de CL-AI 24:1. Dar vórtex.
- 19) Centrifugar 15 min a 14000 rpm a 10 °C.
- 20) Pasar la fase acuosa a otros dos tubos de 1.5 mL (tubos definitivos).
- 21) Agregar 800 µL de etanol absoluto helado.
- 22) Inversión suave hasta observar el algodón de ADN.
- 23) Refrigerar 20 min a -20 °C.
- 24) Centrifugar 5' a 14000 rpm, 10 °C.
- 25) Descartar el sobrenadante mediante inversión.
- 26) Agregar 200.0 µL de tampón TE 20:5. Verificar que el pellet se haya disuelto.
- 27) Adicionar 8 µL de NaCl 5 M. Finger Vórtex.
- 28) Adicionar 420 µL de etanol absoluto helado.
- 29) Invertir suavemente hasta visualizar el pellet.
- 30) Centrifugar 5' a 14000 rpm, 10 °C.
- 31) Descartar el sobrenadante mediante inversión.
- 32) Agregar 400 µL de etanol al 70% helado. Finger vórtex (hasta desprender el pellet).
- 33) Centrifugar de 3' - 5' a 14000 rpm a una temperatura de 10 °C.
- 34) Descartar el sobrenadante mediante inversión.
- 35) Repetir una vez los pasos del 32 al 34

- 36) Adicionar 400 μ L de etanol absoluto helado. Finger vórtex (hasta desprender el pellet).
- 37) Visualizar el tamaño de los pellets y asignar el volumen de TE 10:1
- 38) Centrifugar 5' a 14000 rpm, 10 °C.
- 39) Descartar el sobrenadante mediante inversión.
- 40) Dejar secar a temperatura ambiente o en el concentrador de ADN durante ~8' a 30 °C
- 41) Verificar que el tubo esté seco antes de resuspenderlo.
- 42) Resuspender el ADN en tampón TE 10:1 (según el tamaño del pellet)
- 43) Guardar a -20 °C

Anexo 5: Protocolo de aislamiento de ADN genómico a partir de folículos pilosos.

PROTOCOLO DE EXTRACCIÓN DE ADN GENÓMICO A PARTIR DE FOLÍCULOS PILOSOS

DIA 1

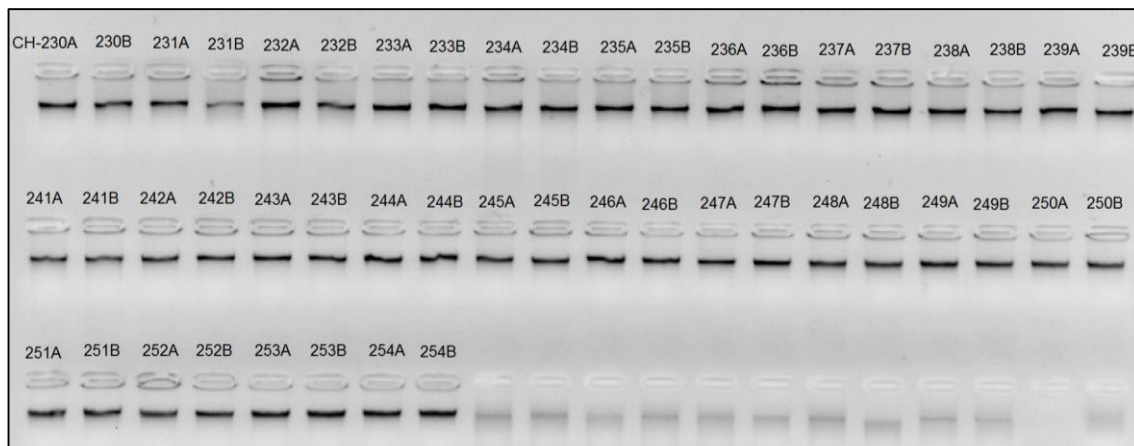
- 1) Cortar aproximadamente 50.0 folículos pilosos a 02 cm a partir de la punta del pelo y colocarlos en un microtubo de 2.0 µL.
- 2) Adicionar 500 µL de tampón TE 20:5 a la muestra con folículos pilosos.
- 3) Adicionar 75 µL de SDS 10% (No formar espuma). Vórtex.
- 4) Adicionar 15 µL de Proteinasa K. Vórtex.
- 5) Adicionar 50 µL de DTT 1M
- 6) Encubar en el termobloque a 56 °C y a 800 rpm por 3 horas. Verificar que los pelos se hayan disuelto.
- 7) Luego de 02 h agregar 20 µL de DTT
- 8) Agregar 500.0 µL de acetato de potasio (Ac-K) 3.0 M. Vórtex.
- 9) Refrigerar 10' a -20 °C.
- 10) Centrifugar por 15' a 14000 rpm a 10 °C.
- 11) Separar todo el sobrenadante en 02 tubos de 1.5 mL.
- 12) Adicionar 500 µL de cloroformo-alcohol isoamílico (CL-AI) 24:1. Dar vórtex.
- 13) Centrifugar 15' a 14000 rpm a 10 °C.
- 14) Pasar la fase acuosa otros dos tubos de 1.5 mL.
- 15) Agregar isopropanol hasta 1.5 mL.
- 16) Inversión suave los tubos hasta observar el algodón de ADN.
- 17) Refrigerar 30' a -20 °C.
- 18) Centrifugar 5' a 14000 rpm, 10 °C. Descartar el sobrenadante mediante inversión.
- 19) Agregar 300.0 µL de tampón TE 20:5, disolver el pellet y almacenar a 4 °C.

DIA 2

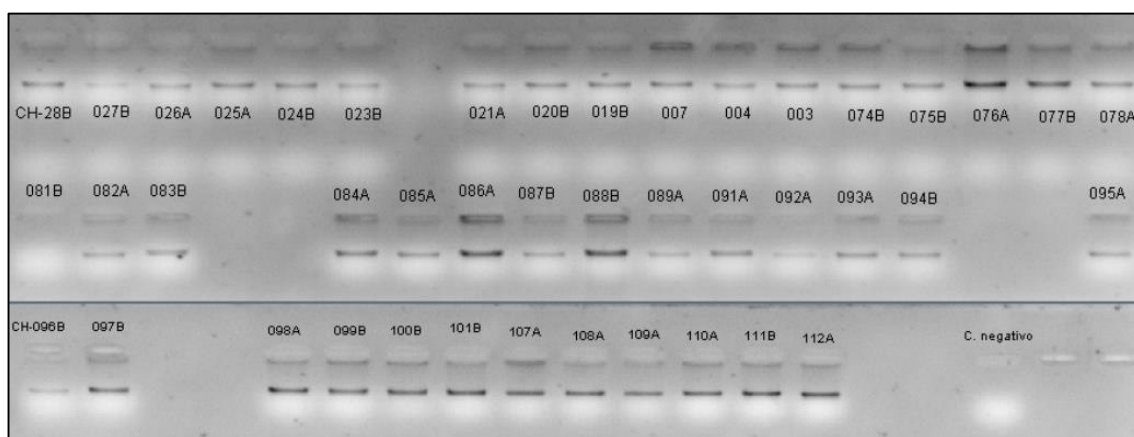
- 20) Adicionar 200 µL de Ac-K 3 M. Vórtex.
- 21) Adicionar 500 µL de CL-AI 24:1. Dar vórtex.
- 22) Centrifugar 15 min a 14000 rpm a 10 °C.
- 23) Pasar la fase acuosa a otros dos tubos de 1.5 mL (tubos definitivos).
- 24) Agregar 800 µL de etanol absoluto helado.
- 25) Inversión suave hasta observar el algodón de ADN.
- 26) Refrigerar 20 min a -20 °C.
- 27) Centrifugar 5' a 14000 rpm, 10 °C.
- 28) Descartar el sobrenadante mediante inversión.
- 29) Agregar 200.0 µL de tampón TE 20:5. Verificar que el pellet se haya disuelto.
- 30) Adicionar 8 µL de NaCl 5 M. Finger Vórtex.
- 31) Adicionar 420 µL de etanol absoluto helado.
- 32) Invertir suavemente hasta visualizar el pellet.
- 33) Centrifugar 5' a 14000 rpm, 10 °C.
- 34) Descartar el sobrenadante mediante inversión.
- 35) Agregar 400 µL de etanol al 70% helado. Finger vórtex (hasta desprender el pellet).

- 36) Centrifugar de 3' - 5' a 14000 rpm a una temperatura de 10 °C.
- 37) Descartar el sobrenadante mediante inversión.
- 38) Repetir una vez los pasos del 32 al 34
- 39) Adicionar 400 µL de etanol absoluto helado. Finger vórtex (hasta desprender el pellet).
- 40) Visualizar el tamaño de los pellets y asignar el volumen de TE 10:1
- 41) Centrifugar 5' a 14000 rpm, 10 °C.
- 42) Descartar el sobrenadante mediante inversión.
- 43) Dejar secar a temperatura ambiente o en el concentrador de ADN durante ~8' a 30 °C
- 44) Verificar que el tubo esté seco antes de resuspenderlo.
- 45) Resuspender el ADN en tampón TE 10:1 (según el tamaño del pellet)
- 46) Guardar a -20 °C

Anexo 6: Corrida electroforética en gel de agarosa al 1% de ADN genómico de *Capra hircus*.



Anexo 7: Corrida electroforética en gel de agarosa al 1% de diluciones de ADN genómico (20 ng/μL) de *Capra hircus*.



Anexo 8: Información sobre los 21 marcadores microsatélites utilizados.

Nº	MARCADOR	SECUENCIA (5' -> 3')		RANGO	FLUORÓFORO	MOTIVO DE REPETICIÓN	REFERENCIA
1	SRCRSP23	F	TGAACGGGTAAAGATGTG	78-122	HEX	(CA)17	Korkmaz <i>et al.</i> , 2010
		R	TGTTTTTAATGGCTGAGTAG				
2	SRCRSP5	F	GGACTCTACCAACTGAGCTACAAG	159-191	HEX	(AC)20	Maletsanake <i>et al.</i> , 2003
		R	TGAAATGAAGCTAAAGCAATGC				
3	SRCRSP8	F	TGCGGTCTGGTTCTGATTTTAC	204-258	HEX	(GA)16	Maletsanake <i>et al.</i> , 2003
		R	GTTTCTTCCTGCATGAGAAAGTCGATGCTTAG				
4	SPS113	F	CCTCCACACAGGCTTCTCTGACTT	127-155	HEX	(AT)19	El-Sayed <i>et al.</i> , 2016
		R	CCTAACTTGCTTGAGTTATTGCC				
5	ILST087	F	AGCAGACATGATGACTCAGC	133-157	HEX	(CA)14	Ramamoorthi <i>et al.</i> , 2009
		R	CTGCCTCTTTTCTTGAGAGC				
6	CSRD247	F	GGACTTGCCAGAACTCTGCAAT	217-242	HEX	*	Caihong <i>et al.</i> , 2014
		R	CACTGTGGTTTGTATTAGTCAGG				
7	BM1818	F	AGCTGGGAATATAACCAAAGG	246-282	HEX	(GT)13	Bishop <i>et al.</i> , 1994
		R	AGTGCTTTCAAGGTCCA TGC				
8	OARCP34	F	GCTGAACAATGTGATATGTTTCAGG	112-126	HEX	(AC)17TTGCGTGT(CA) 4	Ede <i>et al.</i> , 1994
		R	GGGACAATACTGTCTTAGATGCTGC				
9	OarFCB20	F	GGAAAACCCCATATATACCTATAC	92-106	6-FAM	(GT)15	Buchanan <i>et al.</i> , 1994
		R	AAATGTGTTTAAGATTCCATACATGTG				
10	MAF65	F	AAAGGCCAGAGTATGCAATTAGGAG	109-155	6-FAM	(CA)20	Lowson, 2007
		R	CCACTCCTCCTGAGAATATAACATG				

Nº	MARCADOR	SECUENCIA (5' -> 3')		RANGO	FLUORÓ FORO	MOTIVO DE REPETICIÓN	REFERENCIA
11	INRA005	F	TTCAGGCATACCCTACACCACATG	114-140	6-FAM	(GT)13	Vaiman <i>et al.</i> , 1992
		R	AAATATTAGCCAACTGAAAAGTGGG				
12	ILSTS019	F	AGGGACCTCATGTAGAAGC	141-159	6-FAM	(TG)10	Ramamoorthi <i>et al.</i> , 2009
		R	ACTTTTGGACCCTGTAGTGC				
13	INRA063	F	GACCACAAAGGGATTTGCACAAGC	162-182	6-FAM	(CA)13	Caihong <i>et al.</i> , 2014
		R	AAACCACAGAAATGCTTGGAAG				
14	ETH152	F	TACTCGTAGCGCAGGCTGCCTG	181-211	6-FAM	(CA)17	Steffenp <i>et al.</i> , 1993
		R	GAGACCTCAGGGTTGGTGATCAG				
15	INRA172	F	CCACTTCCCTGTATCCTCCT	229-251	6-FAM	*	Vaiman <i>et al.</i> , 1993
		R	GGTGCTCCCATTTGTGTAGAC				
16	HSC	F	CTGCCAATGCAGAGACACAAGA	260-302	6-FAM	*	Martínez <i>et al.</i> , 2005
		R	GTCTGTCTCCTGTCTTGTCATC				
17	ILSTS008	F	GAATCATGGATTTTCTGGGG	147-187	NED	(CA)12	Ramamoorthi <i>et al.</i> , 2009
		R	TAGCAGTGAGTGAGGTTGGC				
18	BM1258	F	GTATGTATTTTCCCACCCTGC	103-131	NED	*	Arranz <i>et al.</i> , 1998
		R	GTCAGACATGACTGAGCCTG				
19	INRA023	F	GAGTAGAGCTACAAGATAAACTTC	194-224	NED	*	Di Stasio, 2005
		R	TAACCTACAGGGTGTTAGATGAACTC				
20	MCM527	F	GTCCATTGCCTCAAATCAATTC	153-185	NED	*	Martínez <i>et al.</i> , 2004
		R	AAACCACTTGACTACTCCCCAA				
21	INRA006	F	AGGAATATCTGTATCAACCGCAGTC	77-141	NED	*	Maletsanake <i>et al.</i> , 2003
		R	CTGAGCTGGGGTGGGAGCTATAAATA				

(*) Información que no se encuentra publicada

Anexo 9: Protocolos de amplificación por PCR multiplex.

PROTOCOLO: M1 (OarFCB20,ILST08,SRCRSP8, SRCRSP5, SRCRSP23, MAF65, ETH152, INRA172, SPS113, BM1258)		
	Conc. Stock	Conc. Final
H ₂ O MQ		
TAMPÓN	5 X	1 X
dNTPs	2.5 mM	0.3 mM
MgCl ₂	25 mM	2.5 mM
PRIMER F: OarFCB20 FAM	20 µM	0.13 µM
PRIMER R: OarFCB20 FAM	20 µM	0.13 µM
PRIMER F: ILSTS008 NED	20 µM	0.045 µM
PRIMER R: ILSTS008 NED	20 µM	0.045 µM
PRIMER F: SRCRSP8 HEX	20 µM	0.14 µM
PRIMER R: SRCRSP8 HEX	20 µM	0.14 µM
PRIMER F: SRCRSP5 HEX	20 µM	0.22 µM
PRIMER R: SRCRSP5 HEX	20 µM	0.22 µM
PRIMER F: SRCRSP23 HEX	20 µM	0.22 µM
PRIMER R: SRCRSP23 HEX	20 µM	0.22 µM
PRIMER F: MAF65 FAM	20 µM	0.15 µM
PRIMER R: MAF65 FAM	20 µM	0.15 µM
PRIMER F: ETH152 FAM	20 µM	0.09 µM
PRIMER R: ETH152 FAM	20 µM	0.09 µM
PRIMER F:INRA172 FAM	20 µM	0.4 µM
PRIMER R: INRA172 FAM	20 µM	0.4 µM
PRIMER F: SPS113 HEX	20 µM	0.07 µM
PRIMER R: SPS113 HEX	20 µM	0.07 µM
PRIMER F:BM1258 NED	20 µM	0.14 µM
PRIMER R: BM1258 NED	20 µM	0.14 µM
TAQ	5 U	0.4 U
DNA	20 ng/ µL	
Volumen total		10 µL

PROTOCOLO: M2 (INRA005, INRA063, ILST087, CSRD247, INRA023, McM527, INRA006, HSC, OARCP34, BM1818, ILSTS019)		
	Conc. Stock	Conc. Final
H ₂ O MQ		
TAMPÓN	5 X	1 X
dNTPs	2.5 mM	0.3 mM
MgCl ₂	25 mM	3 mM
PRIMER F: INRA005 FAM	20 µM	0.25 µM
PRIMER R: INRA005 FAM	20 µM	0.25 µM
PRIMER F: ILSTS019 FAM	20 µM	0.08 µM
PRIMER R: ILSTS019 FAM	20 µM	0.08 µM
PRIMER F: INRA063 FAM	20 µM	0.15 µM
PRIMER R: INRA063 FAM	20 µM	0.15 µM
PRIMER F: ILST087 HEX	20 µM	0.08 µM
PRIMER R: ILST087 HEX	20 µM	0.08 µM
PRIMER F: CSRD247 HEX	20 µM	0.15 µM
PRIMER R: CSRD247 HEX	20 µM	0.15 µM
PRIMER F: INRA023 NED	20 µM	0.32 µM
PRIMER R: INRA023 NED	20 µM	0.32 µM
PRIMER F: McM527 NED	20 µM	0.08 µM
PRIMER R: McM527 NED	20 µM	0.08 µM
PRIMER F: INRA006 NED	20 µM	0.17 µM
PRIMER R: INRA006 NED	20 µM	0.17 µM
PRIMER F: HSC FAM	20 µM	0.12 µM
PRIMER R: HSC FAM	20 µM	0.12 µM
PRIMER F: OARCP34 HEX	20 µM	0.2 µM
PRIMER R: OARCP34 HEX	20 µM	0.2 µM
PRIMER F: BM1818 HEX	20 µM	0.32 µM
PRIMER R: BM1818 HEX	20 µM	0.32 µM
TAQ	5 U	0.4 U
DNA	20 ng/ µL	
Volumen total		10 µL

Anexo 10: Programas de amplificación para los PCR multiplex.

PROTOCOLO M1		
95 °C	5'	1 CICLO
95 °C	45"	25 CICLOS
57 °C	1'	
72 °C	1'	
72 °C	15'	1 CICLO
4 °C	MANTENIMIENTO	

PROTOCOLO M2		
95 °C	5'	1 CICLO
95 °C	45"	25 CICLOS
55 °C	1'	
72 °C	1'	
72 °C	15'	1 CICLO
4 °C	MANTENIMIENTO	

Anexo 11: Calidad de ADN extraído (en función del índice de pureza 260/280). S = sangre, P = pelo.

Nº	Código	Fuente	Índice 260/280
1	CH-003A	S	2
2	CH-004A	S	1.9
3	CH-005A	S	1.8
4	CH-006C	S	1.9
5	CH-007A	S	1.9
6	CH-008A	S	1.9
7	CH-009B	S	2
8	CH-010C	S	2
9	CH-011B	S	1.9
10	CH-012B	S	1.9
11	CH-013C	S	1.9
12	CH-014B	S	1.8
13	CH-015C	S	2
14	CH-016C	S	2
15	CH-017B	S	1.9
16	CH-018C	S	1.9
17	CH-019B	S	1.9
18	CH-020B	S	1.9
19	CH-021A	S	2
20	CH-022A	S	2
21	CH-023B	S	1.9
22	CH-024B	S	2
23	CH-025A	S	1.9
24	CH-026A	S	2
25	CH-027B(2)	S	1.8
26	CH-028B	S	1.9
27	CH-029A	S	2
28	CH-030B	S	1.9
29	CH-031B	S	1.9
30	CH-032B	S	1.9
31	CH-033A	S	1.9
32	CH-034A	S	1.9
33	CH-035B	S	2
34	CH-036B	S	2
35	CH-037B	S	1.9

Nº	Código	Fuente	Índice 260/280
36	CH-038B	S	1.9
37	CH-039A	S	2
38	CH-040A	S	2.2
39	CH-041A	S	1.9
40	CH-042B	S	2
41	CH-043B	S	2
42	CH-044B	S	2
43	CH-045B	S	2
44	CH-046A	P	2.1
45	CH-047B	S	2.2
46	CH-048A	S	1.8
47	CH-049B	S	2
48	CH-050A	S	2
49	CH-051B	S	2
50	CH-052B(2)	S	1.9
51	CH-053A	S	2
52	CH-054B	S	1.9
53	CH-055A	S	1.9
54	CH-056A	S	1.9
55	CH-057A	S	2
56	CH-058A	S	2
57	CH-059B	S	2
59	CH-061A	S	1.9
60	CH-062B	S	1.9
61	CH-063A	S	1.9
62	CH-064A	S	1.9
63	CH-065A(2)	S	1.8
64	CH-066B	S	1.9
65	CH-067B(2)	S	1.9
66	CH-068B	S	1.9
67	CH-069B	S	1.9
68	CH-070B	S	1.9
69	CH-071A(2)	S	1.9

N°	Código	Fuente	Índice 260/280
70	CH-072B(2)	S	1.8
71	CH-073A(2)	S	1.8
72	CH-074B	S	1.9
73	CH-075B	S	1.8
74	CH-076A	S	1.9
75	CH-077B	S	1.8
76	CH-078A	S	1.9
77	CH-079B	S	1.9
78	CH-080C	P	2
79	CH-081B	S	1.9
80	CH-082A	S	1.9
81	CH-083B	S	1.8
82	CH-084A	S	1.8
83	CH-085A	S	1.9
84	CH-086A	S	1.8
85	CH-087B	S	1.9
86	CH-088B	S	1.8
87	CH-089A	S	1.9
88	CH-090A	S	1.8
89	CH-091A	S	1.8
90	CH-092A	S	1.8
91	CH-093A	S	1.7
92	CH-094A	S	1.8
93	CH-095A	S	1.9
94	CH-096B(2)	S	1.8
95	CH-097B	S	1.7
96	CH-098A	S	1.9
97	CH-099B	S	1.8
98	CH-100B	S	2.3
99	CH-101B	S	1.8
100	CH-103A	P	2
101	CH-104A	P	2.1
102	CH-105A	P	2.1
103	CH-106A	P	2
104	CH-107A	S	1.9
105	CH-108A	S	1.8
106	CH-109A	S	1.7
107	CH-110A	S	1.7

N°	Código	Fuente	Índice 260/280
108	CH-111B	S	1.9
109	CH-112A	S	2.3
110	CH-113A	S	1.8
111	CH-114B	S	1.8
112	CH-115B	S	1.9
113	CH-116A	S	1.9
114	CH-117B	S	1.9
115	CH-118B	S	1.9
116	CH-119B	S	1.9
117	CH-120A	P	2
118	CH-121A	P	2.1
119	CH-122A	P	2
120	CH-123A	P	2
121	CH-124A	P	2.1
122	CH-125A	P	2.1
123	CH-126A	P	1.9
124	CH-127A	P	2.1
125	CH-128A	P	2
126	CH-129A	P	2.1
127	CH-130A	P	2.1
128	CH-131A	P	2.1
129	CH-132A	S	1.9
130	CH-133A	S	1.8
131	CH-134A	S	1.8
132	CH-135A	S	1.9
133	CH-136A	S	1.9
134	CH-137B	S	1.9
135	CH-138B	S	1.9
136	CH-139A	S	1.9
137	CH-140B	S	1.8
138	CH-141B	S	1.8
139	CH-142A	S	1.9
140	CH-143A	S	1.9
141	CH-144A	S	1.8
142	CH-145A	S	1.8
143	CH-146A	S	1.9
144	CH-147A	S	1.9
145	CH-148A	S	1.9
146	CH-149A	S	1.9

N°	Código	Fuente	Índice 260/280
147	CH-150A	S	1.9
148	CH-151A	S	1.8
149	CH-152B	S	1.9
150	CH-153D	S	1.9
151	CH-154A	S	1.9
152	CH-155D	S	1.9
153	CH-156B(2)	S	1.9
154	CH-157A	S	1.9
155	CH-158B	S	1.9
156	CH-159A	S	1.9
157	CH-160A	S	1.9
158	CH-161B	S	1.9
159	CH-162A	S	1.8
160	CH-163A	S	1.9
161	CH-164A	S	1.9
162	CH-165D	S	1.9
163	CH-166A	P	2.1
164	CH-167B	S	2
165	CH-169B(2)	S	2
166	CH-170B	S	1.9
167	CH-171C	S	1.9
168	CH-172E	S	2.1
169	CH-173A	S	1.9
170	CH-174A	S	1.9
171	CH-175A	S	1.9
172	CH-176B	S	1.8
173	CH-177B	S	1.9
174	CH-178B	S	2
175	CH-179A	S	1.9
176	CH-180B	S	1.9
177	CH-181B	S	1.9
178	CH-182B	S	1.8
179	CH-183A	S	1.9
180	CH-184D	S	1.9
181	CH-185C	S	1.9
182	CH-186D	S	2
183	CH-187D	S	1.9
184	CH-188B	S	1.9

N°	Código	Fuente	Índice 260/280
185	CH-189B	S	1.9
186	CH-190B	S	1.9
187	CH-191B	S	1.9
188	CH-192B	S	1.9
189	CH-241B	S	2.1
190	CH-242A	S	1.9
191	CH-243A	S	2
192	CH-244B	S	2
193	CH-245A	S	2
194	CH-246A	S	2
195	CH-247A	S	2
196	CH-248A	S	2
197	CH-249B	S	1.9
198	CH-250B	S	2
199	CH-251A	S	2
200	CH-252A	S	2
201	CH-253A	S	2
202	CH-254A	S	2
203	CH-255A	S	2
204	CH-256A	S	2
205	CH-257B	S	2
206	CH-258A	S	1.9
207	CH-259B	S	2
208	CH-260A	S	2
209	CH-261A	S	1.8
210	CH-262A	S	1.9
211	CH-263A	S	1.9
212	CH-264B	S	1.9
213	CH-265B	S	1.9
214	CH-266A	S	2
215	CH-267A	S	2
216	CH-268A	S	2
217	CH-269A	S	2
218	CH-270A	S	1.9
219	CH-271A	S	2
220	CH-272A	S	2
221	CH-273B	S	2
222	CH-274B	S	2
223	CH-275B	S	2

N°	Código	Fuente	Índice 260/280
224	CH-276A	S	2
225	CH-277A	S	2
226	CH-278A	S	1.9
227	CH-279B	S	1.7
228	CH-280A	S	1.9
229	CH-281A	S	2.1
230	CH-282B	S	2
231	CH-283A	S	2
232	CH-284A	S	1.9
233	CH-285B	S	2
234	CH-286B	S	2
235	CH-287B	S	1.8
236	CH-288A	S	2
237	CH-289B	S y P	2
238	CH-290A	S y P	2.1
239	CH-291B	S	2
240	CH-292A	S	2
241	CH-293A	S	2
242	CH-294A	S	2
243	CH-295A	S	1.9
244	CH-296A	S	2
245	CH-297B	S	2
246	CH-298B	S	2
247	CH-299B	S	2

N°	Código	Fuente	Índice 260/280
248	CH-300A	S	2
249	CH-301A	S	2
250	CH-302B	S	2
251	CH-303A	S	2
252	CH-304A	S	2
253	CH-305A	S	1.9
254	CH-306B	S	2
255	CH-307A	S	2
256	CH-308B	S	2
257	CH-309B	S	2
258	CH-310A	S	1.9
259	CH-311B	S	1.9
260	CH-312B	S	2
261	CH-313B	S	2.1
262	CH-314A	S	1.9
263	CH-315B	S	2
264	CH-316A	S	1.9
265	CH-317B	S	2
266	CH-318A	S	2
267	CH-319B	S	1.9
268	CH-320A	S	1.5
269	CH-321A	S	1.9
270	CH-322B	S y P	2.4